

Ueber das Wesen der Alkaptonurie.

Von

M. Wolkow und E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 8. Januar 1891.)

I.

Die chemische Natur der eigenthümlichen Substanz des Alkaptonharns.

Als Alkapton¹⁾ wurde von Bödeker eine von ihm im Harn eines Diabetikers entdeckte Substanz bezeichnet, durch welche diesem Harn zwei besondere Merkmale ertheilt wurden, ein sehr bedeutendes Reductionsvermögen, und die Eigenschaft, nach Zusatz von Alkalien unter Sauerstoffabsorption sich dunkelbraun bis schwarz zu färben. Wenige Stoffe haben bezüglich ihres Auftretens so mancherlei und einander widersprechende Deutungen erfahren als das Alkapton Bödeker's. Bei einem in der hiesigen chirurgischen Klinik beobachteten Falle von Alkaptonurie, dessen fortlaufende Untersuchung uns durch das freundliche Entgegenkommen von Herrn Prof. Kraske ermöglicht wurde, ist es uns gelungen, das Alkapton in reinem Zustande zu gewinnen, seine Constitution zu ermitteln, seine Abstammung aus den Producten des Stoffwechsels, und einige Bedingungen seiner Entstehung aufzufinden. Da hierdurch die Alkaptonfrage in ein neues Stadium eingetreten ist, mag es angezeigt erscheinen, zunächst einen kurzen Ueberblick über die Literatur dieses Gegenstandes, soweit sie uns zugänglich war, zu geben.

¹⁾ Von Alkali und *καπτεν*. begierig verschlucken.

1. Die früheren Beobachtungen und Ansichten über Alkaptonurie.

Der von Bödeker¹⁾ beschriebene Fall betraf einen 44-jährigen Mann, Diabetiker, welcher ausser den Erscheinungen der allgemeinen Schwäche auch an lumbo-abdominaler Neuralgie litt. Aus dem Harn, dessen rothbräunliche Färbung besonders auffiel, wurde das Alkapton auf folgendem Wege isolirt: Der Harn wurde zuerst mit neutralem Bleiacetat ausgefällt und die abfiltrirte Flüssigkeit mit basischem Bleiacetat versetzt. Der zuletzt erhaltene Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat nach der Entfernung von Schwefelblei eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten blieb eine goldgelbe, glänzende, hygroskopische Masse übrig, aus welcher es nicht weiter gelang, eine reine chemische Verbindung abzuscheiden. Die Masse wurde klebrig an feuchter Luft, entwickelte beim Schmelzen einen widerlichen urinösen Geruch, beim Erhitzen mit Aetznatron flüchtige Producte von alkalischer Reaction; in Wasser und in Alkohol löste sie sich leicht auf, sehr wenig dagegen in wasserfreiem Aether. Die wässrige Lösung zeigte folgende Reactionen: Nach Zusatz von Alkalien trat unter Sauerstoffabsorption Bräunung ein, sie reducirte Lösungen von salpetersaurem Quecksilber, von Uebermangansäure und von Chromsäure; Fehling'sche Lösung wurde beim Erwärmen reducirt. Aus ammoniakalischer Silberlösung wurde in der Kälte Silber abgeschieden, mit neutraler Silberlösung trat Reduction erst beim Erwärmen ein. Die Wismuthprobe blieb aus. Mit Hefe zeigte die Lösung keine Spur einer Gährung. Mit Eisenchlorid färbte sie sich dunkelbraun. Bödeker hielt sein Alkapton für eine stickstoffhaltige Substanz.

Im Jahre 1875 erschien eine Mittheilung Fürbringer's²⁾, welcher an dem Harn eines 29 Jahre alten Phthisikers alle

¹⁾ Ueber das Alkapton, ein neuer Beitrag zur Frage: welche Stoffe des Harns können Kupferreduction bewirken? Zeitschr. f. rat. Medicin, 1859, Bd. VII, S. 130; Ann. d. Chem., Bd. 117, S. 98 (1861).

²⁾ Beobachtungen über einen Fall von Alkaptonurie, Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 23 u. 24.

von Bodeker über den Alkaptonharn gemachten Angaben — mit alleiniger Ausnahme der Chromsäurereaction — bestätigt fand. Die Obduction constatirte Miliartuberculose. Versuche, das Vorhandensein von Alkapton im Pericardial-exsudate, in entfärbtem Blut, sowie im wässerigen Nieren-auszuge nachzuweisen, blieben erfolglos.

In demselben Jahre erschien eine Arbeit von Ebstein und Müller¹⁾ über einen ähnlichen Fall bei einem Kinde von 1½ Jahren. Eine Verdunkelung des Harns an der Luft wurde hier schon von dem 10. Tage der Geburt an bemerkt. Der Harn wurde in folgender Weise verarbeitet: Der eingedampfte Harn wurde mit Alkohol extrahirt, der verdunstete Alkoholauszug wurde mit Aether ausgeschüttelt, welcher die die Braunfärbung bedingende Substanz völlig aufnahm. Der Aether hinterliess beim Verdunsten eine gelbe, syrupdicke Masse, deren wässerige Lösung nachfolgende Reactionen zeigte: Schwärzung von Alkalien, Reduction von Silbernitratlösung in der Kälte, von Gold- und Platinchlorid, von Fehling'scher Lösung und von Permanganat, dunkelgrüne Färbung mit Eisenchlorid, welche nach Zusatz von Weinsäure und Ammoniak in Violett übergingen. Nach dem Verdunsten der wässerigen Lösung wurden weisse säulenförmige Krystalle erhalten, deren Analyse nicht ausgeführt wurde. Auf Grund der Eigenschaften dieser Substanz erklärten sie die Verfasser für Brenzcatechin.

Diese Auffassung war für die Frage der Alkaptonurie von Bedeutung, weil sie eine einfache Erklärung dieser Erscheinung zu liefern schien.

Fleischer²⁾ beobachtete darauf einen Harn, dessen Verhalten mit dem von Fürbringer beschriebenen Alkaptonharn übereinstimmte, aus welchem eine kleine Quantität Brenzcatechin dargestellt werden konnte. Ein sehr ähnliches Verhalten beobachtete Fleischer bei dem Harn mehrerer mit

¹⁾ Brenzcatechin in dem Urin eines Kindes, Virch. Arch., Bd. 62. S. 554 (1875).

²⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 39—40.

Salicylsäure behandelte Kranker, wobei aber die im ersteren Falle mit Ammoniak eintretende Bräunung des Harns fehlte.

Nach diesen Untersuchungen wurde die Existenz des Alkaptons als einer besonderen Substanz ernstlich in Frage gestellt. Bödeker selbst sprach in einer Mittheilung an Fürbringer¹⁾ die Ansicht aus, dass sein Alkapton Brenzcatechin enthalten habe möchte, und Fürbringer spricht sich dafür aus, dass alle mitgetheilten Fälle von Alkaptonharn als Brenzcatechinurie anzusehen seien.

Diese Ansicht erhielt eine weitere Stütze, als Baumann²⁾ zeigte, dass das Brenzcatechin ein normaler Bestandtheil des Pferdeharns ist und wenn nicht regelmässig, so doch sehr häufig in wechselnden Mengen im menschlichen Harn auftritt. Hier wurden zum ersten Male Beobachtungen über die Entstehung des Brenzcatechins im Organismus mitgetheilt, nach welchen die Pflanzennahrung die Quelle der Bildung desselben darstellt. Spätere Versuche von Preusse³⁾ ergaben eine weitere Bestätigung dieses Schlusses und zeigten, dass die in der Pflanzenwelt weit verbreitete Protocatechusäure im Organismus zum Theil in Brenzcatechin verwandelt wird.

Nach den bis dahin vorliegenden Erfahrungen war man berechtigt, die sogenannte Alkaptonurie als die bisweilen äusserst vermehrte Ausscheidung eines normalen Harnbestandtheiles anzusehen. In diesem Sinne äussern sich auch Salkowski und Leube⁴⁾: «Wahrscheinlich identisch mit Brenzcatechin ist das Alkapton von Bödeker und Fürbringer.»

Dass indessen die Ursache des eigenthümlichen Verhaltens des Alkaptonharns nicht oder nicht immer das Brenzcatechin sei, hat zuerst W. Smith⁵⁾ ausgesprochen, welcher am Harn eines 3jährigen Mädchens die früher beschriebenen Reactionen

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 28.

²⁾ Pflüger's Archiv, Bd. 16, S. 63.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. 2, S. 329.

⁴⁾ Die Lehre vom Harn, Berlin 1882, S. 146.

⁵⁾ On the occurrence of Protocatechuic acid in urine. *Dubl. Journ. of med. science*, 1882, T. I. p. 465.

und Reductionerscheinungen beobachtete. Der Harn färbte sich mit Eisenchlorid deutlich grün und gab eine schwache Reaction mit der Wismuthprobe. Interessant ist die Angabe der Mutter des Kindes, dass die Bräunung des Urins während einer Unpässlichkeit des Kindes besonders auffällig sei (this was more noticeable whenever the child had a cold or other slight ailment). Der Harn wurde nach dem Verfahren von Bödeker behandelt. Die wässerige Lösung der auf diesem Wege gewonnenen Substanz gab mit Eisenchlorid eine bläulich grüne Färbung und bräunte sich stark auf Zusatz von Alkalien; sie unterschied sich aber von dem Brenzcatechin dadurch, dass sie mit Wasserdampf sich nicht verflüchtigte und der mit Soda alkalisch gemachten Lösung durch Aether nicht entzogen werden konnte. Smith schloss daraus, dass der Harn nicht Brenzcatechin, sondern Protocatechusäure enthalten habe.

Eine ganz neue Vorstellung über die Alkaptonurie wurde durch Untersuchung von Kirk¹⁾ entwickelt. Dieser Forscher beobachtete eine Familie, von welcher 3 jüngere Kinder einen Harn lieferten, welcher wie Alkaptonharn sich verhielt, während der Harn des älteren Bruders und der Eltern normales Verhalten zeigte. Die Kinder waren, obwohl nicht sehr kräftig, gesund von Aussehen, die Harnentleerung war häufig, aber schmerzlos. Die Untersuchung des Harns nach dem Verfahren von Müller und Ebstein lieferte eine Substanz, welche in ihrem Verhalten manche Aehnlichkeit mit der Protocatechusäure zeigte. Sie erwies sich aber von letzterer verschieden, z. B. bei der Reaction mit Fehling'scher Lösung, ferner durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid, wobei sie nur vorübergehend grün gefärbt wird, und durch ihre leichte Löslichkeit in Wasser. Kirk erhielt aus dem Harn krystalisirte Säure, deren Eigenschaften denen des Bödeker'schen Alkaptons und des Brenzcatechins sehr ähnlich waren, auf folgendem Wege: Der mit Salzsäure angesäuerte Harn wurde

¹⁾ On a new acid found in human urine, which darkens with alkalis. Brit. Med. Journ., 1886, T. II, p. 1017.

auf $\frac{1}{10}$ seines Volums eingedampft und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt; aus dem aromatisch riechenden Aetherextract krystallisirte nach dem Verdunsten des Aethers eine braun gefärbte stickstofffreie Säure in sternförmigen Gruppen. Ihre Lösung bräunte sich mit Alkalien unter Absorption von Sauerstoff, reducirte Fehling'sche Lösung und färbte sich mit Eisenchlorid deutlich, aber vorübergehend grün. Die wässerige Lösung war gelb gefärbt und wurde roth beim Eindampfen, wobei ein dunkler Niederschlag gebildet wurde. Kirk belegte die von ihm isolirte Säure mit dem Namen «Urrhodinsäure» und betrachtete sie als das Product einer tiefen Aenderung oder einer Hemmung (arrest) des Stoffwechsels.

Einen der Urrhodinsäure sehr ähnlichen Körper hat Marshall¹⁾ unter dem Namen «Glycosursäure» beschrieben. Der diese Substanz enthaltende Harn stammte von einem vollständig gesunden Manne. Die Glycosursäure wurde folgendermassen dargestellt:

Der Harn wurde mit basischem Bleiacetat ausgefällt, der Niederschlag mit einer Mischung von gleichen Theilen Wasser und Alkohol ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; nach dem Abfiltriren des Schwefelbleies wurde die Flüssigkeit mit Bleicarbonat einige Minuten gekocht und noch heiss filtrirt. Nach dem Eindampfen des Filtrates krystallisirte das Bleisalz in der Kälte aus, aus welchem durch erneute Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoff die Säure abgeschieden und durch Umkrystallisiren aus wasserhaltigem Aether gereinigt wurde. Die reine Säure bildet farblose tetragonale Prismen vom Schmelzpunkt 140° , löst sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether, in Benzol, Toluol und Petroläther ist sie unlöslich. Beim Eindampfen der Aetherlösung über 60° scheiden sich röthlich bis purpurn gefärbte Krystalle aus; diese Färbung verschwindet beim Lösen in Wasser. Die Säure enthält weder Stickstoff noch Schwefel, und zeigt fol-

¹⁾ Crystalline acid in urine possessing more powerfull reducing properties than glucose. Am. Journ. Pharm. 1887, T. 59, p. 131.

gende Eigenschaften: Bräunung mit Alkalien, Absorption von Sauerstoff durch die alkalische Lösung, Reduction von Silbernitrat in der Kälte, von Fehling'scher Lösung in der Wärme; Wismuthoxyd wird dagegen nicht reducirt. Die Lösung ist optisch inactiv und nicht vergährbar. Mit Eisenchlorid entsteht eine blaue, rasch vorübergehende Färbung. Das Bleisalz der Säure bildet nadelförmige Prismen, welche bei $209,5^{\circ}$ schmelzen; es ist löslich in heissem Wasser, unlöslich in Benzol, Toluol, Petroläther, Alkohol und Aether. Das Krystallwasser enthaltende Bleisalz zeigte einen Gehalt von $33,58\%$ Blei.

Hierher gehört auch eine Beobachtung von Barton Brune¹⁾, welcher aus dem Harn eines jungen Mannes, welcher die oft genannten Reductionerscheinungen und Verfärbungen zeigte, nach dem Verfahren von Smith (l. c.) eine krystallisirte Säure darstellte, von welcher er erkannte, dass sie mit Protocatechusäure nicht identisch sei. Ihre Lösung gab mit Eisenchlorid eine vorübergehende bläulich grüne Färbung. Barton Brune hält es für wahrscheinlich, dass die von Bödeker, Ebstein und Müller, Smith, Kirk beschriebenen Körper identisch seien und keine bestimmte pathologische Bedeutung hätten.

Im Jahre 1889 erschien eine äusserst interessante weitere Arbeit von Kirk²⁾, welcher bei der ferneren Untersuchung der von ihm entdeckten Urrhodinsäure fand, dass diese Säure noch ein Gemenge von zwei oder mehr Körpern darstelle, aus welchem die Abscheidung einer ganzen reinen Substanz durch fractionirte Fällung in folgender Weise gelang: Die durch Lösen der Urrhodinsäure in wenig warmem Wasser entstandene braunrothe Flüssigkeit wurde mit so viel einer gesättigten Lösung von Bleiacetat versetzt, bis das von dem abgeschiedenen dunkeln Niederschlag getrennte Filtrat nur noch gelb gefärbt erschien. In diesem wurde krystallisirtes Bleiacetat verrieben, wobei ein rahmfarbiger Niederschlag,

¹⁾ A reducing substance in urine resembling glucose. Boston Med. Journ., 1886, T. 115, p. 621, und T. 116, p. 83.

²⁾ On a new acid found in human urine, which darkens with alkalis (alkaptonuria). Journ. of anatomy and physiology, T. 23, p. 69, 1889.

welcher abfiltrirt, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Das Filtrat wurde im Vacuum verdunstet, oder mit viel Aether ausgeschüttelt; nach dem Verdunsten des Aethers bei niederer Temperatur wurden nadelförmige gelbliche Krystalle erhalten, welche schon bei schwachem Erwärmen sich bräunten. Die durch Umkrystallisiren aus Aether gereinigte Substanz bildet farblose Krystalle, welche bei 133° schmelzen. Durch die Analyse wurde die empirische Formel $C_9H_{10}O_5$ ermittelt. Der neue Körper erhielt den Namen Uroleucinsäure.

Aus dem gelb gefärbten Filtrat vom Bleiniederschlag, welches die Uroleucinsäure enthielt, isolirte Kirk eine zweite Substanz von saurer Reaction, welche mit Aether extrahirt und in Form einer gelben amorphen Masse erhalten wurde. Diese Säure besitzt die gleichen Eigenschaften wie die Uroleucinsäure, von welcher sie nur dadurch sich unterscheidet, dass sie die Wismuthprobe nicht liefert; sie soll bedeutend mehr Sauerstoff als die letztere enthalten. Diese bis jetzt nicht analysirte Substanz wurde von Kirk Uroxanthinsäure benannt und, wegen des Verhaltens bei der Wismuthprobe, als diejenige Substanz betrachtet, welche am meisten dem Alkpton Bödeker's entspricht.

Die Uroleucinsäure krystallisirt aus Aether in Drusen oder Garben nadelförmiger Krystalle oder in einzelnen schräg abgeschnittenen Prismen. Sie löst sich in ca. 5 Theilen Aether, in etwa 6 Theilen Alkohol, in 25 Theilen kaltem und in 20 Theilen heissem Wasser, in Chloroform und Petroläther. Die wässrige Lösung färbt sich beim Stehen allmähig, beim Eindampfen schnell, dunkel unter Zersetzung. Neutrales Bleiacetat gibt mit einer 2procentigen Lösung einen schwachen Niederschlag, während eine 0,25procentige Lösung nicht mehr gefällt wird. Durch hasisches Bleiacetat entstehen auch in verdünnteren Lösungen Niederschläge. Das Bleisalz ist in kaltem Wasser sehr schwer, leichter in heissem Wasser löslich. Die wässrige Lösung der Uroleucinsäure wird mit Eisenchlorid grün gefärbt, diese Färbung verschwindet aber fast augenblicklich. Gegen Millon's Reagens zeigt die Uro-

leucinsäure ein der Gallussäure ganz ähnliches Verhalten, d. h. sie gibt zuerst einen ziegelrothen Niederschlag, der beim Kochen grau-braun wird [Huppert¹⁾]. Die Uroleucinsäure ist nach Kirk eine einbasische Säure. Huppert (l. c.) hat wegen mancher Beziehungen dieser Säure zu der Gallussäure eine Vermuthung ausgesprochen, welche durch unsere Versuche eine wesentliche Bestätigung erfährt, dass nämlich die Uroleucinsäure als eine Trioxyphenylpropionsäure anzusehen sei.

2. Ist die Alkaptonurie eine pathologische Erscheinung?

Dass die Alkaptonurie nicht als das Symptom einer besonderen Krankheit aufzufassen, darüber sprechen sich Alle, welche diese Erscheinung beobachtet haben, übereinstimmend aus. Der Umstand, dass dieselbe relativ häufig bei sehr verschiedenen Erkrankungen beobachtet worden ist, darf auch nicht wohl für die Ansicht Kirk's²⁾, dass die Urrhodinsäure, d. i. das Alkapton, das Product einer tiefen Aenderung oder Hemmung des Stoffwechsels sei, geltend gemacht werden. Die Erfahrung, dass die Alkaptonurie auch bei gesunden Personen fast jeglichen Alters auftritt, spricht vielmehr dafür, dass die Alkaptonurie eine nicht ganz seltene Erscheinung ist, welche bei Kranken nur deshalb häufiger wahrgenommen wird, weil deren Harn im Allgemeinen eine grössere Aufmerksamkeit als dem von Gesunden geschenkt wird. Diese Auffassung erhält durch den von uns beobachteten Fall von Alkaptonurie eine eclatante Bestätigung. Bei einem 67jährigen bis vor Kurzem ganz gesunden Manne bestanden nach dessen Versicherung alle äusseren Merkmale der Alkaptonurie während seines ganzen Lebens seit früher Kindheit; dass dieselben aber eine wirkliche Alkaptonurie anzeigten, wurde erst nach der Aufnahme dieses Mannes in der chirurgischen Klinik von Herrn Prof. Kraske erkannt.

¹⁾ Huppert, Analyse des Harns, Wiesbaden 1890, S. 152 u. 155.

²⁾ Brit. Med. Journ., 1886, T. II, p. 1017.

Bei einer vorübergehenden Behandlung desselben Individuums in einem Krankenhause hatte wenige Monate vorher die dunkle Farbe des Harns des Patienten keine Beachtung gefunden.

Der Kranke ist am 28. Mai 1890 in die chirurgische Klinik aufgenommen worden, zunächst um wegen schon länger bestehender Urinbeschwerden auf Vorhandensein eines Blasensteines untersucht zu werden. Es stellte sich aber heraus, dass ein solcher nicht vorhanden war. Die Diagnose wurde auf Carcinom der Prostata gestellt.

Eine Mittheilung der Krankengeschichte nebst einigen Ergebnissen der Harnuntersuchung dieses Falles ist kürzlich von P. Kraske und dem Einen von uns veröffentlicht worden¹⁾. Wir geben im Folgenden einige Sätze aus dieser Mittheilung wörtlich wieder, weil sie für die allgemeine Beurtheilung des Falles von besonderem Interesse sind.

«Der Kranke, dem es nicht entging, dass seinem Urin und insbesondere der Verfärbung desselben eine grosse Aufmerksamkeit geschenkt wurde, machte sofort darauf aufmerksam, dass das Dunkelwerden seines Urins eine Erscheinung sei, die sich bereits seit seiner frühesten Kindheit gezeitigt hätte. Sie sei bald stärker, bald schwächer gewesen; niemals aber hätte sie ganz gefehlt. Ein Einfluss der Lebensweise auf die Intensität der Verfärbung sei von ihm nicht bemerkt worden. Auch habe sich seit dem Eintritt der Harnbeschwerden Nichts daran geändert. Da der Kranke sich stets wohl befunden hat, ist er nicht veranlasst worden, dem abnormen Verhalten seines Urins eine besondere Bedeutung beizulegen.»

Hiernach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass es sich bei dem Kranken um eine Stoffwechselanomalie handelte, welche bereits während seines ganzen Lebens bestanden hatte und zu seinem Prostataleiden jedenfalls in gar keiner Beziehung stand.

¹⁾ Münchener med. Wochenschr., 1891, No. 1.

3. Untersuchung des Harns.

Der frisch entleerte Harn zeigte eine stroh- bis bernsteingelbe Farbe und meist schwach saure Reaction; das specifische Gewicht schwankte bei gewöhnlicher Spitalkost zwischen 1,010 und 1,014, bei vorwiegender Fleischnahrung zwischen 1,014 und 1,020. Die Harnmenge betrug während der Zeit mit gemischter Nahrung durchschnittlich 2 Liter und sank bei vorwiegender Fleischnahrung auf 1,5 Liter pro Tag.

Der Harn reducirte alkalische Kupferlösung schon beim schwachen Erwärmen, ammoniakalische Silberlösung sofort in der Kälte. Dagegen trat die Wismuthprobe in Uebereinstimmung mit den Angaben von Bödeker (l. c.), Fürbringer (l. c.), Marshall (l. c.), Kirk (l. c.) nicht ein.

Der Harn ging immer bald in ammoniakalische Gährung über. Beim Stehen trat schon bevor der Harn alkalisch reagirte, nach einigen Stunden eine von der Oberfläche ausgehende grünlich braune Verfärbung ein; bei ganz ruhigem Stehen war die Entwicklung dieser Veränderung ganz ähnlich derjenigen, welche der Pferdeharn unter den gleichen Umständen erfährt¹⁾, und nicht wesentlich verschieden von dem äusseren Verhalten eines Carbolharnes. Beim Umschütteln des alkalisch gewordenen Harns ging die Farbe in Dunkelbraun bis Schwarz über. Augenblicklich trat diese Veränderung ein, wenn man den mit einigen Tropfen Natronlauge oder Ammoniak versetzten Harn umschüttelte. Dabei wurde Sauerstoff reichlich absorbirt.

Bei der Destillation des Harns mit Salzsäure gingen Spuren von flüchtigen Phenolen, wie aus normalem Harn über. Der Nachweis der Indoxylschwefelsäure gelang im Harn nicht direct, wohl aber nach Fällen mit Bleiacetat im Filtrate des Bleiniederschlages, aus welchem das Blei zuvor durch Schwefelwasserstoff entfernt war. Ihr Menge war ungefähr normal. Auch die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren war nicht vermehrt. Der Harn war optisch inactiv.

¹⁾ Vergl. E. Baumann, Pflüger's Arch., Bd. 12, S. 63.

Der Träger der reducirenden Eigenschaften des Harns wurde letzterem nach starkem Ansäuern durch oft wiederholtes Ausschütteln mit grossen Mengen von Aether entzogen. Beim Schütteln des Aetherauszuges mit verdünnter Sodalösung nahm letztere unter Braunfärbung die reducirende Substanz völlig auf. Dem entsprechend wurde dem nicht angesäuerten Harn beim Schütteln mit Aether Nichts von dem reducirenden Stoff entzogen.

Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb ein stark saurer, dunkel rothbraun gefärbter, aromatisch riechender Syrup, welcher in Wasser sich leicht beinahe völlig löste; in Weingeist und Aether löste er sich zu einer braunen klaren Flüssigkeit auf. Die Lösungen dieser Substanz zeigten in ihrem Verhalten eine so grosse Aehnlichkeit mit den von Kirk beschriebenen Eigenschaften der Urrhodinsäure beziehungsweise der Uroleucinsäure, dass wir nicht anders glaubten, als dass die von Kirk entdeckten Stoffe uns vorlägen.

Es wurde deshalb zunächst eine Quantität von circa 5 Litern des Harns nach dem Verfahren Kirk's zur Darstellung der Uroleucinsäure verarbeitet:

Der auf $\frac{1}{10}$ seines Volums verdampfte Harn wurde mit Aether extrahirt, um verunreinigende Stoffe zu beseitigen. Da der eingedampfte Harn stark sauer reagirt, geht beim Ausschütteln mit Aether auch etwas von der reducirenden Säure in denselben über und wird bei dieser Verarbeitung verloren. Der nach dem Verdunsten des Aethers erhaltene Syrup wurde in wenig warmem Wasser gelöst, und die Lösung mit Bleiacetat — zur Entfernung färbender Stoffe — versetzt, das gelb gefärbte Filtrat des Bleiniederschlages wurde mit Bleizuckerkrystallen verrieben, wobei die Flüssigkeit sich in einen dünnen Brei verwandelte. Diese zweite Bleifällung wurde abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; dem Filtrat vom Schwefelblei wurde die darin enthaltene Säure durch Ausschütteln mit Aether wieder entzogen und die ätherische Lösung bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet. Dabei würde ein bräunlich gefärbter Syrup erhalten, welcher über Schwefelsäure zu

einer strahligen Krystallmasse allmählig erstarrte. Dabei zeigte sich die auffällige Erscheinung, dass neben den nadelförmigen Krystallen sich Körnchen und Gruppen blauer Massen bildeten, deren Entstehung durch einen Oxydationsvorgang bedingt erschien. Verdunstete man die ätherische Lösung der Säure in der Wärme, so trat diese Umwandlung noch schneller ein, dabei entstanden aber auch dunkel gefärbte Producte, durch welche die Reinigung der Säure weiter erschwert wurde. Bei den weiteren Versuchen, die Säure zu reinigen, ging der grössere Theil der Substanz verloren. Schliesslich gelang es, einen kleinen Theil derselben in nahezu reinem Zustande auf folgende Weise zu gewinnen: Die Lösung der aus dem Bleisalz abgeschiedenen unreinen Säure in wenig wasserfreiem Aether wurde mit dem 20fachen Volum Chloroform vermischt und in einem offenen Becherglase bei Seite gestellt; in dem Maasse, als der Aether verdunstete, krystallisirte in Gruppen von kaum gefärbten Nadeln und Prismen die gesuchte Säure aus.

Die Vergleichung der Eigenschaften der Säure mit denen der Uroleucinsäure Kirk's liess alsbald erkennen, dass unsere Säure der Uroleucinsäure in vielen Beziehungen sehr ähnlich, jedenfalls aber mit ihr nicht identisch sei.

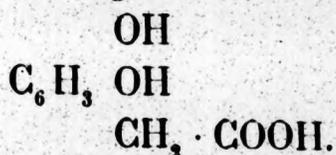
Der Schmelzpunkt unserer Säure lag bei 147° , während die Uroleucinsäure bei 133° schmilzt. Unsere Säure war in Wasser, Alkohol und Aether wesentlich leichter löslich als die Uroleucinsäure; es ergab sich keine Möglichkeit, die Säure, wie Kirk für die Reinigung der Uroleucinsäure empfahl, aus Aether umzukrystallisiren.

Die wässrige Lösung unserer Säure gab mit verdünnter Auflösung von Eisenchlorid eine fast sofort verschwindende blaue Färbung, während die Uroleucinsäure dabei eine unbeständige Grünfärbung zeigt. Die wässrige Lösung unserer Säure gab auch bei einer Concentration von 1% mit Bleiacetat sofort eine krystallinische Fällung, während die Uroleucinsäure erst bei einer Concentration von 2% einen schwachen Niederschlag mit Bleizucker gibt. Eine Lösung von 0,2% unserer Säure wurde durch Bleiacetat nicht als-

bald gefällt, nach einiger Zeit aber krystallisirte das sehr schwer lösliche Bleisalz aus. Durch dieses Verhalten unserer Säure fand der Umstand, dass wir nach dem Kirk'schen Verfahren eine nur sehr geringe Ausbeute an der Säure erhielten, eine einfache Erklärung, denn sie war zum allergrössten Theil in der ersten Bleifällung, welche anfangs beseitigt wurde, enthalten.

Unter diesen Umständen erschien es geboten, zunächst ein für die Gewinnung hinreichender Mengen der Substanz geeignetes Verfahren ausfindig zu machen, welches im folgenden Abschnitt beschrieben wird.

4. Homogentisinsäure,



Bei den verschiedensten Versuchen, eine möglichst vollständige Abscheidung der eigenthümlichen Säure des Alkaptonharns zu erzielen, zeigte sich, dass erhebliche Verluste derselben in keinem Falle ausgeschlossen werden konnten. Wir blieben deshalb schliesslich bei einem durch seine Einfachheit sich empfehlenden Verfahren stehen, bei welchem man, wie sich später zeigte, allerdings nur einen Theil der wirklich vorhandenen Säure gewinnt, welches aber erhebliche Schwankungen in der Ausscheidung der Säure, weil der Fehler ziemlich gleich blieb, gut anzeigt.

Die Methode ist folgende: Der Harn von 24 Stunden wird mit 250 ccm. verdünnter Schwefelsäure (von 12%) angesäuert und mit dem gleichen Volum Aether 3mal ausgeschüttelt. Dabei wird der grössere Theil der reducirenden Substanz dem Harn entzogen, während ein kleinerer Theil derselben in der grossen Menge der wässerigen Flüssigkeit festgehalten wird, so zwar, dass noch oft wiederholte Extraction mit Aether weitere kleine Mengen der Säure liefert. Verdunstet man die mit Aether erschöpfte Flüssigkeit auf die Hälfte des Volums, so wird bei der erneuten Extraction vom

Aether wieder etwas Säure aufgenommen, welche aber durch Beimengungen verunreinigt ist¹⁾).

Der nach dem Abdestilliren des Aethers zurückbleibende rothbraune Syrup, welcher bei längerem Stehen zur Krystallmasse erstarrt, wurde in 250 ccm. Wasser gelöst. Die bis nahe zum Sieden erwärmte Lösung wird mit 30 ccm. neutraler Bleiacetatlösung (1 : 5) versetzt und von einer meist geringen Menge eines harzigen braun gefärbten Niederschlages möglichst schnell durch ein Faltenfilter abfiltrirt. Aus der mehr oder weniger stark gelb gefärbten Flüssigkeit schiessen beim Erkalten durchsichtige Nadeln und Prismen des Bleisalzes der Säure an, welches in kaltem Wasser fast unlöslich ist, in überschüssiger Bleiacetatlösung aber etwas leichter als in Wasser sich löst. Da bei den Darstellungen stets gleich grosse Mengen Bleizucker und Lösungsmittel angewendet wurden, schien die Annahme berechtigt, dass die Quantität des gelöst bleibenden Bleisalzes auch gleich bliebe; diese Voraussetzung trifft indessen auch dann nur annähernd zu, wenn von der Säure selbst ungefähr gleiche Mengen im Harn enthalten sind.

Das nach 24stündigem Stehen abgeschiedene Bleisalz wurde auf einem Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen, zuerst an der Luft, dann über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen werden in einem folgenden Kapitel besprochen werden.

Das von vielen Tagen so gewonnene Bleisalz, welches gelb bis hellbraun gefärbt war, diente als Ausgangsmaterial zur Darstellung der reinen Säure und ihrer Verbindungen. Versuche, das in kaltem Wasser fast unlösliche Bleisalz durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser völlig zu reinigen, schlugen fehl, weil beim Kochen der Lösung des Salzes eine geringe

¹⁾ Versuche, die Säure aus dem eingedampften Harn abzuscheiden, ergaben, dass in diesem Falle der Aether die Säure vollständiger aufnahm, dass aber ein Theil der Säure schon durch das Eindampfen verloren ging und die Reinigung der Säure erschwert war. Deshalb wurde von weiteren Versuchen, den eingedampften Harn zu verarbeiten, Abstand genommen.

Zersetzung eintritt, durch welche immer von Neuem gefärbte Producte entstehen, die zum Theil als amorpher Niederschlag sich abscheiden. Bei längerem Erhitzen der Lösung der an sich geruchlosen Substanz tritt ein scharfer stechender Geruch auf, der auch bei der Verarbeitung unreiner Lösungen der freien Säure bemerkt wird.

Es wurde desshalb davon Abstand genommen, das Bleisalz, das, abgesehen von geringen Mengen färbender Materien, fast ganz rein war, weiter zu reinigen. Das fein zerriebene Bleisalz wurde unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und die vom Schwefelblei befreite Lösung im Wasserbade in flachen Schalen so weit verdunstet, bis die anfangs fast farblose Flüssigkeit sich dunkel zu färben begann; dann wurde sie im Vacuum bis nahe zur Syrupconsistenz weiter eingengt, wobei die Abscheidung von fast ungefärbten, durchsichtigen grossen prismatischen Krystallen erfolgte, welche zwischen Papier abgepresst, an der Luft rasch getrocknet und in ein verschlossenes Gefäss gebracht wurden. Diese Krystalle enthalten Wasser, welches sie schon bei gewöhnlicher Temperatur unter schnell eintretender Verwitterung verlieren, wobei sie undurchsichtig werden und zerfallen. Das Krystallwasser entweicht bei gewöhnlicher Temperatur völlig, wenn die Krystalle 24 Stunden über Schwefelsäure gestellt werden.

Die Analyse der trockenen Substanz, führte zu der Formel $C_8H_8O_4$.

I. 0.1847 gr. Substanz gaben:

0,3890 gr. CO_2 = 57,43% Kohlenstoff und
0,0810 » H_2O = 5,29 » Wasserstoff.

II. 0,2146 gr. Substanz gaben:

0,4509 gr. CO_2 = 57,30% Kohlenstoff,
0,1023 » H_2O = 5,28 » Wasserstoff.

		Berechnet:	Gefunden:	
			I.	II.
C_8	= 96	57,14	57,43	57,30
H_8	= 8	4,76	5,29	5,28
O_4	= 64	38,10	—	—
	168	100,00		

Krystallwasserbestimmung:

0,825 gr. Substanz verloren über Schwefelsäure 0,078 gr. Wasser
= 9,45%.

	$C_8H_8O_4 + H_2O$	
	Berechnet:	Gefunden:
Krystallwasser	9,67%	9,45%.

Die Säure krystallisirt somit mit 1 Mol. Wasser. Trocknet man die Säure bei 100°, so verliert sie durch Anhydridbildung ein weiteres Molecul Wasser. Bei wenig über 100° sublimiren feine, in Wasser unlösliche Krystalle des Anhydrids.

Die Säure schmilzt bei 146,5 bis 147° unter Gelbfärbung. Sie ist im wasserfreien Zustande nicht hygroskopisch. In Wasser, Weingeist und Aether löst sie sich sehr leicht auf. Sie kann am besten aus Wasser umkrystallisirt werden, wobei wegen der grossen Löslichkeit erhebliche Verluste nicht zu vermeiden sind. In Chloroform, Benzol, Toluol ist die Säure auch in der Wärme fast unlöslich. Die wasserfreie Säure erhält man in durchsichtigen Blättchen, wenn man zu der Lösung in wenig absolutem Alkohol siedendes Chloroform im Ueberschuss hinzu gibt und langsam erkalten lässt.

Die wässrige Lösung der Säure färbt sich bei längerem Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge tritt sofort Braun- bis Schwarzfärbung ein, ebenso wirken auch schon Alkalicarbonate. Mit Silberlösung entsteht im ersten Augenblick keine Reaction, nach wenigen Secunden aber färbt sich die Flüssigkeit dunkel, während metallisches Silber abgeschieden wird. Diese Reduction erfolgt augenblicklich, wenn man ammoniakalische Silberlösung anwendet. Fehling'sche Lösung wird langsam in der Kälte, schnell beim Erwärmen reducirt.

Eine 1procentige Lösung gibt mit der Wismuthprobe keine Reaction, und selbst eine 5procentige Lösung zeigt nur eine undeutliche Reaction, Eisenchlorid gibt die schon erwähnte sehr rasch vorübergehende Blaufärbung, welche noch bei einer Verdünnung von 1 auf 4000 deutlich zu erkennen ist. Beim Kochen mit concentrirter Eisenchloridlösung tritt der Geruch von Chinon auf. Mit Bromwasser ent-

steht keine Fällung, sondern, wie es scheint, völlige Zersetzung. Beim Erwärmen mit verdünnter Salpetersäure tritt gleichfalls unter Entwicklung rother Dämpfe Oxydation ein, ohne dass ein Nitroderivat der Säure erhalten wird.

Mit Millon's Reagens wird die wässrige Lösung der Säure gelb gefärbt, nach kurzer Zeit entsteht in der Kälte ein gelber amorpher Niederschlag, welcher beim Erhitzen sich ziegelroth färbt. Genau dasselbe Verhalten zeigt eine wässrige Lösung von Hydrochinon.

Beim Erhitzen in der Probirrhöhre sublimirt die zuerst geschmolzene Säure scheinbar unverändert. Wird das Erhitzen in einer weiten Röhre ausgeführt, so dass Luft Zutreten kann, so wird das Sublimat in Folge einer geringen Oxydation schön blau gefärbt.

Die weitere Untersuchung der Säure ergab, dass sie einbasisch ist und zwei Phenolhydroxylgruppen enthält. Sie ist nicht identisch mit einer der bis jetzt bekannten 16 einbasischen Säuren von der Formel $(C_6H_4O)_2$, sondern diejenige bis jetzt nicht bekannte Dioxyphenylessigsäure, welche vom Hydrochinon sich ableitet. Da die Hydrochinoncarbonsäure oder Oxysalicylsäure seit längerer Zeit den Namen Gentisinsäure führt, so kommt unserer Säure nach der von Tie mann für verwandte Stoffe eingeführten Nomenclatur die Bezeichnung Homogentisinsäure zu. Da wir nur einige Wochen lang den die neue Substanz enthaltenden Harn zur Gewinnung der Säure verarbeiten konnten, haben wir, um unser Material zu sparen, zunächst nur solche Versuche angestellt, welche für die Ermittlung der Constitution der Säure von Bedeutung waren.

5. Homogentisinsaures Blei, $(C_6H_7O_4)_2Pb + 3H_2O$.

Man erhält das Bleisalz der Säure in farblosen durchsichtigen Prismen und Nadeln von starkem Glanz, wenn man die bis nahe zum Sieden erhitzte wässrige 1 procentige Lösung

¹⁾ Vergl. Beilstein, 2. Aufl., II, S. 1121 u. ff.

der Säure mit Bleiacetat versetzt. Beim Erkalten krystallisirt das Salz fast völlig aus. Es enthält 3 Molecüle Krystallwasser, welche bei Liegen an der Luft nicht, wohl aber im Exsiccator oder beim Erhitzen auf 100° entweichen.

Analysen des trockenen Salzes:

I. 0,3418 gr. Substanz gaben:

0,4430 gr. CO_2 = 35,34% Kohlenstoff,

0,106 » H_2O = 3,44 » Wasserstoff.

II. 0,3229 gr. Substanz gaben:

0,4155 gr. CO_2 = 35,09% Kohlenstoff,

0,0893 » H_2O = 3,10 » Wasserstoff.

III. 0,348 gr. Substanz gaben:

0,4511 gr. CO_2 = 35,35% Kohlenstoff,

0,095 » H_2O = 3,03 » Wasserstoff.

IV. 0,2620 gr. Substanz gaben beim Erhitzen mit conc. Schwefelsäure im Platintiegel 0,146 gr. PbSO_4 = 38,03% Blei

V. 0,951 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0885 gr. = 9,30% Wasser.

VI. 1,4095 gr. verloren im Vacuum 0,1325 gr. = 9,40% Wasser.

Zusammenstellung:

		$(\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_4)_2\text{Pb}$	Gefunden:			
		Berechnet:	I.	II.	III.	IV.
C_{16}	= 192	35,49%	35,34	35,09	35,35	—
H_{14}	= 14	2,59 »	3,44	3,10	3,03	—
O_8	= 128	23,66 »	—	—	—	—
Pb	= 207	38,26 »	—	—	—	38,03
	541	100,00				

Krystallwasser:

$(\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_4)_2\text{Pb} + 3\text{H}_2\text{O}$	Gefunden:	
Berechnet:	V.	VI.
9,08%	9,30	9,40.

Das Bleisalz schmilzt bei $214-215^{\circ}$ zu einer klaren Flüssigkeit. Es löst sich bei 20° in 675 Theilen Wasser. In Alkohol und in Aether ist es unlöslich.

Wenn man die mit Soda neutralisirte Lösung der Säure mit Bleiacetat fällt, erhält man das Bleisalz von der gleichen Zusammensetzung wie das oben beschriebene.

6. Homogenitinsäureäthylester,
 $C_8H_7O_4(C_2H_5)$.

Man erhält den Ester, wenn man in die abgekühlte alkoholische Lösung der Säure Salzsäuregas einleitet; nach 24 Stunden wird mit Wasser verdünnt, mit Soda übersättigt und mit Aether ausgeschüttelt. Der syrupöse Rückstand des Aetherauszugs erstarrt beim Erkalten zur Krystallmasse, welche aus heissem Wasser umkrystallisirt wird.

Der Ester bildet farblose, prismatische Krystalle, welche in kaltem Wasser schwer, leichter in heissem Wasser sich lösen, er ist in Weingeist und Aether leicht, schwer in Chloroform und Benzol löslich, und schmilzt bei 119—120°.

Analysen:

I. 0,1692 gr. Substanz gaben:

0,3785 gr. CO_2 = 61,08% Kohlenstoff,

0,0935 » H_2O = 6,13 » Wasserstoff.

II. 0,1760 gr. Substanz gaben:

0,3940 gr. CO_2 = 61,05% Kohlenstoff,

0,1020 » H_2O = 6,43 » Wasserstoff.

	$C_8H_7O_4(C_2H_5)$ Berechnet:	Gefunden:	
		I.	II.
C_{10} = 120	61,22%	61,05	61,08
H_{12} = 12	6,12 »	6,43	6,13
O_4 = 64	32,65 »	—	—
	196		
	99,99		

Der Homogenitinsäureäthylester bildet sich immer, auch wenn die Lösung der Säure in alkoholhaltigem Aether, beim Abdestilliren des Aethers, erhitzt wird. Er ist daher stets in der rohen Säure enthalten; bei der Darstellung des Bleisalzes geht er in das Filtrat vom homogenitinsäuren Blei über, welchem er durch Schütteln mit Aether entzogen werden kann. Bei der quantitativen Bestimmung der Säure durch Wägen des Bleisalzes bedingt dieser Umstand einen Verlust, dessen Grösse in weiter unten zu beschreibenden Versuchen ermittelt wurde.

Gegen Reductionsmittel und Alkalien verhält er sich fast genau so wie die Säure selbst; mit Eisenchlorid gibt

er eine augenblicklich wieder verschwindende blau-grüne Färbung.

Als wir auf den Ester zuerst in den von dem homogenitinsauren Blei abfiltrirten Lösungen durch deren stark reducirende Wirkung auf ammoniakalische Silberlösung aufmerksam wurden, glaubten wir zuerst, es liege ein mehrwerthiges Phenol vor, welches neben der Homogenitinsäure durch den Stoffwechsel gebildet worden sei. Die genauere Untersuchung zeigte aber bald die völlige Identität dieses Körpers mit dem aus der reinen Säure gebildeten Ester.

7. Dimethylhomogentisinsäure, $C_8H_6O_4(CH_3)_2$.

3 gr. krystallisirte Homogentisinsäure wurden mit 20 gr. Methylalkohol, in welchem zuvor 3 gr. Aetzkali gelöst waren, und mit 10 gr. Methyljodid in geschlossener Röhre 3 Stunden lang auf 130° erwärmt. Der sauer reagirende Inhalt der Röhre wurde zur Entfernung des überschüssigen Methyljodids und des Methylalkohols und zur Spaltung des gleichzeitig gebildeten Methylesters der Dimethylhomogentisinsäure auf dem Wasserbade mit Aetzkali erwärmt, alsdann mit Wasser verdünnt und mit Schwefelsäure angesäuert. Dabei entstand zuerst eine Trübung, bald darauf schieden sich nadelförmige Krystalle ab, welche mit einem dunkel gefärbten Harz verunreinigt waren. Der Flüssigkeit wird die noch gelöste Säure durch Ausschütteln mit Aether entzogen.

Die so erhaltene Substanz wurde in heissem Wasser gelöst und mit einigen Tropfen Permanganat entfärbt. Beim Erkalten des mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzten Filtrates krystallisirten farblose Nadeln und Blättchen.

Die Dimethylhomogentisinsäure schmilzt bei $124,5^\circ$, sie ist in kaltem Wasser schwer, leicht in siedendem Wasser löslich, von Alkohol, Aether, Chloroform wird sie leicht aufgenommen. Ihre wässrige Lösung wird durch Bleiacetat in jeder Verdünnung gefällt, mit Eisenchlorid gibt sie keine Reaction. mit Alkalien wird sie nicht gebräunt, und reducirt weder ammoniakalische Silberlösung, noch Fehling'sche Lösung.

Die Analyse ergab Werthe, welche für die nach der Darstellung zu erwartende Säure, die isomer mit dem Aethyl-ester der Homogentisinsäure ist, gut stimmen:

0,1726 gr. Substanz gaben:

0,3860 gr. CO₂ = 60,99% Kohlenstoff,

0,0997 » H₂O = 6,41 » Wasserstoff.

	Berechnet für C ₈ H ₆ O ₄ (C ₃ H) ₂ :	Gefunden:
C ₁₀ = 120	61,22%	60,99%
H ₁₂ = 12	6,12 »	6,41 »
O ₄ = 64	32,65 »	
196	99,99	

Das Ammoniumsalz der Dimethylhomogentisinsäure krystallisirt aus Wasser in langen spiessigen Krystallen. Seine Lösung gibt mit Bleiacetat einen krystallinischen Niederschlag, mit Kupfersulfat eine hellgrüne, gleichfalls krystallinische Fällung; das Silbersalz ist lichtbeständig und bildet in Wasser unlösliche, sehr feine Nadeln. Die Lösung der Dimethylhomogentisinsäure gibt, im Gegensatze zur Homogentisinsäure, mit Bromwasser eine reichliche amorphe Fällung eines leicht veränderlichen Bromproductes.

Der Methylester der Dimethylhomogentisinsäure wird als Nebenproduct bei der Darstellung der Dimethylhomogentisinsäure erhalten. Er ist in kaltem Wasser fast unlöslich und kann durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser leicht gereinigt werden; er bildet dann fast quadratisch erscheinende, völlig ausgebildete klinorhombische Tafeln, welche bei 45° schmelzen und in Weingeist und in Aether leicht löslich sind.

Analyse:

0,179 gr. Substanz gaben:

0,4099 gr. CO₂ = 62,45% Kohlenstoff,

0,1068 » H₂O = 6,62 » Wasserstoff.

	Berechnet für C ₆ H ₃ { OCH ₃ OCH ₃ CH ₂ COO(CH ₃):	Gefunden:
C ₁₁ = 132	62,86	62,45%
H ₁₄ = 14	6,66	6,62 »
O ₄ = 64	30,48	
210	100,00	

Die Dimethylhomogentisinsäure lässt sich, im Gegensatz zur Homogentisinsäure, äusserst leicht nitriren. Setzt man zu der heissen wässerigen Lösung der Dimethylhomogentisinsäure tropfenweise reine Salpetersäure, so erstarrt die Flüssigkeit bald zu einem Brei sehr langer, glänzender, schwach gelb gefärbter Nadeln einer Mononitrodimethylhomogentisinsäure, welche in kaltem Wasser unlöslich, auch in siedendem Wasser ziemlich schwer löslich ist. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 204° .

Analyse:

0,2068 gr. Substanz gaben 10,5 ccm. N bei 6° und 738 mm. B.
 = 0,0126 gr. = 6,08% Stickstoff.

		Berechnet für			
		C_6H_2	{	OCH_3 OCH_3 NO_2 CH_2COOH	Gefunden:
C_{10}	=	120	—	—	—
H_{11}	=	11	—	—	—
N	=	14	5,81 %	6,08 %	6,08 %
O_6	=	96	—	—	—
		241			

Durch die bisher mitgetheilten Versuche mit der aus dem Alkaptonharn gewonnenen Säure ist festgestellt, dass dieselbe einbasisch ist und zwei Hydroxylgruppen im Benzolreste enthält.

8. Kalischmelze der Homogentisinsäure.

Die Kalischmelze sollte Aufschluss über die Stellung der Hydroxylgruppen und der Seitenkette geben. Sie wurde zuerst mit dem Bleisalze ausgeführt. Dabei gelang es leicht, die Bildung von Hydrochinon zu constatiren, welches der wässerigen angesäuerten Lösung der Schmelze beim Schütteln mit Aether entzogen wurde. Die gelbe ätherische Lösung wurde zur Abscheidung von Säuren mit verdünnter Soda-lösung geschüttelt, und der Aether verdunstet¹⁾. Der Rück-

¹⁾ Dabei machte sich ein starker Geruch von Chinon bemerkbar, welcher durch einige Tropfen schwefliger Säure beseitigt wurde.

stand erstarrte zu einer strahligen Krystallmasse, aus welcher durch Umkrystallisiren aus heissem Toluol farblose glänzende kurze Prismen erhalten wurden, welche bei 168° schmolzen. Diese Krystalle lösten sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether. Die wässerige Lösung reducirte Silberlösung und Fehling'sche Lösung in der Kälte, durch Alkalien wurde sie braun bis schwarz gefärbt. Mit Eisenchlorid entsteht keine Färbung, beim Erhitzen wird der stechende Geruch von Chinon entwickelt, der nach Erwärmen der Lösung mit einer Spur Chromsäure in unverkennbarer Weise auftritt. Die aus der Kalischmelze gewonnene Substanz zeigt ferner eine Reaction des Hydrochinons, welche von Baumann und Preusse¹⁾ vor längerer Zeit als eine empfindliche Probe für die Erkennung derselben beschrieben worden ist: Erhitzt man Hydrochinon in der Reagirröhre, so sublimirt es, ohne dass eine Farbenveränderung eintritt; erhitzt man aber eine Spur dieser Substanz in einer weiten Röhre, so dass der Hydrochinondampf einige Zeit mit der Luft in Berührung bleibt, so nimmt das Sublimat eine tief indigoblaue Färbung an, welche beim Hinzubringen von Lösungsmitteln wieder verschwindet. Hydrochinon, welches noch Spuren von Verunreinigungen enthält, insbesondere solches, welches aus Harn dargestellt wurde, zeigt diese Farbenreaction viel deutlicher und reiner als das ganz reine Präparat, mit dem sie indessen auch stets gelingt. Der blaue Farbstoff ist jedenfalls ein Oxydationsproduct und entsteht sofort, wenn man zu dem Hydrochinon vor dem Erhitzen eine Spur Chinon gibt.

Die Ausbeute an Hydrochinon war indessen gering, so zwar, dass nach Anstellung der Identitätsreactionen eine für die Analyse ausreichende Menge von Substanz nicht übrig blieb. Es scheint, dass durch das aus dem Bleisalz bei der Schmelze abgeschiedene Bleioxyd und dessen oxydirende Wirkung die Ausbeute an den Reactionsproducten beeinträchtigt wurde. Es fiel insbesondere auf, dass neben dem Hydrochinon keine aromatische Säure in nennenswerther

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 157.

Menge erhalten werden konnte. Deshalb wurde zu einem weiteren Schmelzversuch die durch Verdunsten der Mutterlaugen der reinen Homogentisinsäure gewonnene unreinere Säure verwendet.

4 gr. dieser Säure wurden fein gepulvert in einen Tiegel eingetragen, in welchem 25 gr. Aetzkali mit sehr wenig Wasser geschmolzen waren. Die Temperatur wurde langsam bis auf 350° gesteigert und 5 Minuten lang auf dieser Höhe erhalten. Die erkaltete Schmelze wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Aether wiederholt ausgeschüttelt. Der ätherischen Lösung wurde dieses Mal durch verdünnte Sodalösung eine Säure entzogen, welche noch ebenso stark reducirende Eigenschaften besass als die Homogentisinsäure. Da ätherischen Lösungen von Hydrochinon letzteres beim Schütteln mit Sodalösung auch theilweise entzogen wird, wurde die abgetrennte alkalische Lösung, welche dunkelbraun gefärbt war, wiederholt mit Aether extrahirt, so lange der Aetherrückstand noch Silberlösung reducirte. Erst jetzt wurde die alkalische Flüssigkeit wieder mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether auf's Neue ausgezogen. Beim Verdunsten dieses Aetherextractes blieb ein bräunlich gefärbter Syrup, welcher krystallinisch erstarrte. Er bestand aus etwa 1 gr. einer in Wasser leicht löslichen Säure, welche mit Eisenchlorid eine intensiv blaue beständige Färbung gab. Die wässrige Lösung gab mit Bleiacetat eine geringe Fällung, welche neben Verunreinigungen eine Spur unveränderter Homogentisinsäure enthielt. Die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, und wieder mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers blieb eine nur wenig gefärbte Säure zurück, welche aus siedendem Toluol umkrystallisirt wurde. Dabei wurde ca. 1 Decigramm farblosor kurzer Prismen erhalten, welche bei $196-198^{\circ}$ schmolzen, und alle Eigenschaften der Gentisinsäure zeigten. Der Schmelzpunkt der Gentisinsäure liegt nach Goldberg¹⁾ bei $196-197^{\circ}$, nach Müller²⁾ bei $199-200^{\circ}$. Die Lösung

¹⁾ Journ. f. pr. Chem. [2], Bd. 19, S. 368.

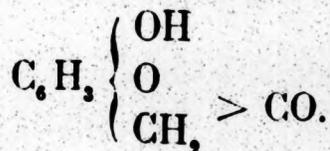
²⁾ Ann. d. Chem., Bd. 220, S. 124.

der reinen Säure wurde durch Bleiacetat nicht mehr gefällt, mit wenig Eisenchlorid entstand eine tiefblaue, sehr beständige Färbung, beim Erhitzen mit überschüssigem Eisenchlorid wurde Chinon gebildet, alkalische Silberlösung wurde sofort in der Kälte reducirt. Alkalien färbten die Lösung der Säure schwarzbraun.

Danach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass Gentisinsäure vorlag. Ausser dieser Säure und Hydrochinon, welches auch bei der zweiten Schmelze gewonnen wurde, konnten weitere Producte in letzterer nicht nachgewiesen werden.

Eine geringe Menge des noch nicht völlig gereinigten Hydrochinons wurde in verdünnter wässriger Lösung in der von Hinsberg und v. Udránszky¹⁾ angegebenen Weise benzoylirt. Das hierbei gebildete Dibenzoylhydrochinon wurde durch Umkrystallisiren aus heissem Weingeist leicht gereinigt und schmolz, in Übereinstimmung mit der Beobachtung Döbner's²⁾, bei 199°.

9. Lacton der Homogentisinsäure.



Erhitzt man die Homogentisinsäure kurze Zeit über ihren Schmelzpunkt, so verwandelt sie sich vollständig in ihr Lacton, welches zum Theil sublimirt. Das Lacton ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich, in siedendem Wasser löst es sich ziemlich leicht; es ist in Weingeist und in Aether schwerer löslich als die Säure, in siedendem Chloroform und in Benzol löst es sich schwer, aber merklich leichter als die Säure, welche in Chloroform und Benzol fast ganz unlöslich ist. Das Lacton kann aus siedendem Wasser umkrystallisirt werden, ohne dass die geringste Rückverwandlung in die

¹⁾ Ann. d. Chem., Bd. 254, S. 253.

²⁾ Ebenda, Bd. 210, S. 265.

Säure statt hat. Man erhält es auf diesem Wege in kurzen prismatischen Krystallen, welche bei 191° schmelzen.

Analyse:

0,169 gr. gaben:

0,398 gr. CO_2 = 64,22% Kohlenstoff und

0,0643 » H_2O = 4,22 » Wasserstoff.

		Berechnet für $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3$:	Gefunden:
C_8	= 96	64,0%	64,22%
H_6	= 6	4,0 »	4,22 »
O_3	= 48	32,0 »	—
<hr/>			
150		100,0	

Die wässrige Lösung des Lactons wird durch Alkalien sofort in das Salz der Säure verwandelt.

Mit Millon's Reagens entsteht in der Kälte ein weisser Niederschlag, beim gelinden Erwärmen färbt sich derselbe und die Flüssigkeit roth (Plugge's Reaction einwerthiger Phenole).

Mit Bromwasser gibt das Lacton einen gelb gefärbten Niederschlag einer unlöslichen, aber leicht veränderlichen Bromverbindung (Unterschied von der Säure).

Die wässrige Lösung des Lactons gibt mit Silbernitrat auch bei längerem Stehen keine Reduction. Diese tritt sofort ein, wenn eine Spur Ammoniak, welches das Lacton in die Säure zurückverwandelt, zugesetzt wird.

Die weingeistige Lösung des Lactons gibt mit Eisenchlorid eine undeutliche dunkle Färbung.

10. Constitution der Homogentisinsäure.

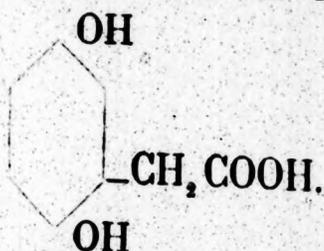
Durch das Ergebniss der Kalischmelze wird die Frage nach der Constitution der aus dem Alkapionharn gewonnenen Säure aufgeklärt. Dieselbe stellt einen Abkömmling des Hydrochinons dar, in welchem 1 Wasserstoffatom durch den Rest der Essigsäure ersetzt ist: $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})^2\text{CH}_2\text{COOH}$, oder eine im

(OH)²

Benzolkern methylyrte Gentisinsäure: $\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{COOH}$. In letz-

terem Falle wären drei Möglichkeiten durch die verschiedene

Art der Stellung der Methylgruppe gegeben, während von der zuerst genannten Constitution nur ein Körper existiren kann:



Mehrere der im Früheren mitgetheilten Beobachtungen sprechen aber unzweideutig dafür, dass unserer Säure die zuletzt genannte Constitution, durch welche sie als «Homogentisinsäure» bezeichnet wird, zukommt.

Diese Gründe sind folgende:

Die Orthooxycarbonsäuren des Benzols besitzen die Eigenschaft, ein inneres Anhydrid (Lacton) zu bilden, nur dann, wenn der Rest $\text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ oder $\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ in der Orthostellung zur OH-Gruppe sich befindet, nicht aber wenn die Carboxylgruppe neben der HO-Gruppe steht. Da diese Eigenschaft aber unserer Säure zukommt, kann sie nicht eine im Benzolkern methylyrte Gentisinsäure sein.

Die Gentisinsäure zerfällt beim Erhitzen leicht in Kohlensäure und Hydrochinon. Dagegen kann unsere Säure (wegen der Lactonbildung) auf hohe Temperatur erhitzt werden, ohne dass Kohlensäureabspaltung, wobei Hydrotoluchinon entstehen müsste, eintritt.

Endlich würde eine im Kern methylyrte Gentisinsäure bei vorsichtigem Schmelzen mit Aetzkali eine Hydrochinondicarbonsäure ergeben, von welcher bei unseren Schmelzversuchen jedenfalls Nichts gebildet worden ist. Das negative Resultat unzerer Versuche in dieser Richtung ist nicht ohne Bedeutung, wenn man sich erinnert, dass z. B. die p-Dioxyterephthalsäure bei Temperaturen von 300° von schmelzendem Aetzkali noch kaum angegriffen wird.

Es hätte keine Schwierigkeit geboten, die von uns angetretene Beweisführung der Constitution der Homogentisinsäure noch weiter zu verfolgen, wenn der aus dem Harn dargestellte Vorrath der Säure nicht noch für mancherlei andere Versuche in Anspruch genommen worden wäre. Inzwischen

hat Herr Dr. T a h a r a es unternommen, die Homogentisinsäure synthetisch aus dem Gentsinaldehyd darzustellen, wodurch auf anderem Wege eine Bestätigung der von uns aufgestellten Constitutionsformel der Homogentisinsäure zu erwarten ist.

Durch die bisher beschriebenen Versuche ist festgestellt, dass in der von uns aus einem Alkaptonharn dargestellten Homogentisinsäure ein von der Uroleucinsäure Kirk's verschiedener Körper vorliegt. Wir haben uns in der Folge bemüht, festzustellen, ob neben der von uns gefundenen Säure nicht kleinere Mengen von Uroleucinsäure in dem Alkaptonharn enthalten seien. Da letztere aus verdünnten Lösungen durch Bleiacetat nicht gefällt wird, wäre ihre Trennung von der Homogentisinsäure nicht schwierig gewesen. Allein wir haben niemals auch nur Spuren der von Kirk entdeckten Säure nachweisen können.

Vergleicht man unsere Resultate mit denen früherer Beobachter des Alkaptonharns, so zeigt sich in einigen Punkten eine grosse Uebereinstimmung der Eigenschaften der Homogentisinsäure mit den mehr oder weniger eingehenden Beschreibungen von Alkaptonharn, so dass nicht zweifelhaft sein kann, dass der von früheren Forschern untersuchte Alkaptonharn in gewissen Fällen ebenfalls Homogentisinsäure enthalten hat. Insbesondere wird die Vermuthung nahe gelegt, dass Marshall's Glycosursäure noch nicht ganz reine Homogentisinsäure gewesen sei, wenn man die Angaben Marshall's unseren Beobachtungen über die Homogentisinsäure an die Seite stellt. Während Huppert diese Säure als identisch mit der Uroleucinsäure ansieht, möchten wir sie für ein Gemenge von Uroleucinsäure mit Homogentisinsäure halten. Diese Annahme würde die Angaben Marshall's in guten Einklang mit den Beobachtungen Kirk's und mit unseren Versuchen bringen:

Die Eisenchloridreaction der Glycosursäure beschreibt Marshall ganz so, wie sie bei der Homogentisinsäure, nicht aber bei der Uroleucinsäure, eintritt.

Der Schmelzpunkt der Glycosursäure (140°) liegt in der Mitte zwischen dem der Uroleucinsäure (133°) und der Homogentisinsäure (147°).

Der Schmelzpunkt des Bleisalzes der Glycosursäure wurde bei $209,5^{\circ}$ beobachtet, während der unseres Bleisalzes bei $214-215^{\circ}$ liegt.

Der Bleigehalt des wasserhaltigen Bleisalzes wurde von Marshall zu $33,58\%$ ermittelt. Unser Bleisalz $(C_8H_7O_4)_2Pb + 3H_2O$ enthält $34,79\%$ im wasserhaltigen Zustand, während allerdings die Annahme von einem Molecul Wasser in dem uroleucinsäuren Blei eine dem gefundenen Werthe näher liegende Zahl ($33,43\%$) ergeben würde.

Auch die von Barton Brune¹⁾ geschilderte Eisenchloridreaction bei der von ihm aus Alkaptonharn abgeschiedenen unreinen Säure stimmt mit dem Verhalten der Homogentisinsäure überein, und Barton Brune hatte jedenfalls Recht, seine Säure für verschieden von der Protocatechusäure zu erklären. Da er seine Säure nicht genauer untersucht hat, fehlt die Möglichkeit einer weiteren Vergleichung derselben mit der Homogentisinsäure.

Aus dem Vorstehenden geht jedenfalls zur Genüge hervor, dass das Auftreten der Homogentisinsäure im Alkaptonharn nicht etwa ein von uns beobachtetes Unicum darstellt, sondern dass bei der Alkaptonurie als Ursache der eigenthümlichen Eigenschaften des Harns entweder die Uroleucinsäure oder die Homogentisinsäure oder das Auftreten beider Säuren zugleich anzusehen ist.

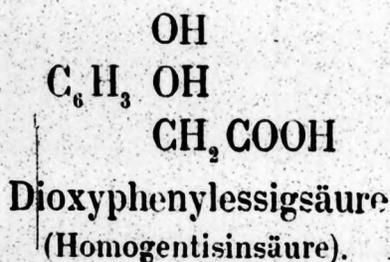
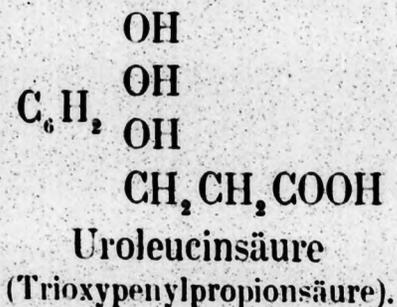
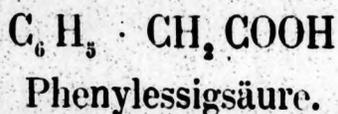
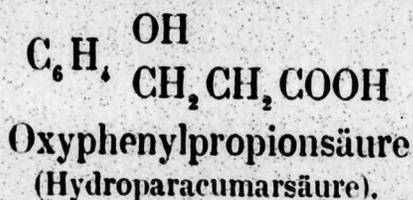
Ob bei den früheren Beobachtungen, bei welchen die Alkaptonurie auf eine abnorm vermehrte Ausscheidung von Brenzcatechin zurückgeführt wurde, es sich immer um diese Substanz handelte, oder ob dabei auch die zuletzt genannten Säuren in Frage kommen konnten, muss dahin gestellt bleiben. Auf Grund der vorliegenden Angaben halten wir uns nicht für berechtigt, in diesem Sinne eine Kritik an denselben zu üben, oder sie in Zweifel zu ziehen, um so weniger als der Eine von uns selbst einen solchen Fall beobachtet hat, wo im Harn eines gesunden Knaben — allerdings ganz vorübergehend — erhebliche Mengen von Brenzcatechin auftraten²⁾.

¹⁾ Boston Med. Journ., 1886, Bd. 115, S. 621 und Bd. 116, S. 83.

²⁾ E. Baumann, Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 66 und 67.

Unverkennbar sind die Beziehungen und Aehnlichkeiten der Uroleucinsäure und der Homogentisinsäure. Wenn Huppert auf Grund einer Vergleichung der Uroleucinsäure und der Gallussäure vermuthete, dass erstere eine Trioxyphenylpropionsäure sei, sehen wir uns veranlasst, dieser Ansicht Huppert's vollkommen uns anzuschliessen auf Grund der Aehnlichkeit der Uroleucinsäure und der Homogentisinsäure.

Beide Säuren stehen nach dieser Auffassung zu einander in demselben Verhältnisse wie zwei andere aromatische Säuren, welche unter sehr ähnlichen Bedingungen aus dem Eiweiss sich bilden können, die Phenylelessigsäure und die Oxyphenylpropionsäure (Hydroparacumarsäure), wie folgende Formeln erkennen lassen:



II.

Bedingungen und Ursache der Alkaptonurie.

1. Die Aetherschwefelsäuren des Alkaptonharns.

Nachdem, wie aus dem ersten Theil dieser Arbeit hervorgeht, festgestellt war, dass in dem von uns beobachteten Alkaptonharn die Homogentisinsäure derjenige Körper ist, welcher das abnorme Verhalten des Harns bedingte, war es zunächst von Wichtigkeit, festzustellen, ob durch diese Säure die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn verändert wird oder nicht. Die nahen Beziehungen der Homogentisinsäure zum Hydrochinon, welches, wenn es in den Organismus gelangt ist, in Form von Hydrochinonschwefelsäure aus-

geschieden wird, liessen eine solche Möglichkeit nahe gerückt erscheinen.

Indessen ergaben zu verschiedenen Zeiten wiederholt ausgeführte Aetherschwefelsäurebestimmungen, dass deren Mengen in dem Alkaptonharn nicht im Geringsten von der normalen Ausscheidung abwichen.

Folgende Tabelle enthält die darauf bezüglichen Zahlenverhältnisse:

Harn vom:	Menge in cbcm.	Spec. Gew.	H ₂ SO ₄ in 100 cbcm. Harn		A B
			aus Sulfaten	aus Aether- schwefel- säuren	
			A.	B.	
12. Juni	1750	1,010	0,0681	0,0067	10,1
15. »	2130	1,010	0,0585	0,0059	9,9
22. »	2300	1,012	0,0938	0,0071	13,2
1. Juli	2080	1,012	0,0854	0,0079	10,6
3. »	2390	1,0115	0,0675	0,0059	11,6
7. » ¹⁾	1900	1,014	0,1232	0,0084	14,6
30. » ¹⁾	800	1,016	0,1581	0,01178	13,4

Mit dem Ergebniss dieser Bestimmungen steht vollkommen im Einklange, was früher bei der allgemeinen Untersuchung des Harns (S. 238) über die Ausscheidung der normalen Fäulnisproducte im Harn, welche gleichfalls nicht vermehrt waren, gesagt wurde.

2. Quantitative Bestimmung der Homogentisinsäure im Harn.

Bevor man der Frage nach der Entstehung oder der Abstammung der Homogentisinsäure im Organismus näher treten konnte, war es erforderlich, die täglichen Mengen der Ausscheidung der Säure kennen zu lernen, d. h. eine Methode aufzufinden, durch welche dieselbe ermittelt werden konnte. Dabei kam es nicht sowohl darauf an, die absolute Grösse derselben ganz genau festzustellen, als Schwankungen der-

¹⁾ Die gesteigerte Ausscheidung der Schwefelsäure ist durch die an diesen Tagen vorwiegend aus Fleisch bestehende Nahrung bedingt.

selben, namentlich wenn sie erheblich wurden, sicher beobachten zu können.

Für eine solche Bestimmungsmethode schien sich am besten die reducirende Wirkung der Säure auf ammoniakalische Silberlösung zu eignen, weil diese Reduction schon in der Kälte eintritt und in wenigen Minuten beendigt ist. Der Schwierigkeit, dass das ausgeschiedene Silber dabei so fein vertheilt ist, dass man es nicht abfiltriren kann, wurde dadurch begegnet, dass man nach Zusatz der ammoniakalischen Silberlösung, sobald das Ende der Oxydationswirkung eingetreten war, in der Flüssigkeit einen Niederschlag von Calciumcarbonat erzeugte, welcher beim Umschütteln das metallische Silber so einhüllte, dass man sofort ein klares, wenn auch gefärbtes Filtrat erhielt. Dieses Filtrat gab entweder mit Salzsäure einen Niederschlag von Chlorsilber, dann war die Silberlösung im Ueberschuss verwendet worden, oder es gab auf weiteren Zusatz von Silberlösung erneute Reduction, dann war die zugesetzte Menge der Silberlösung ungenügend, oder beide Reactionen blieben aus, dann war eben die zur Oxydation erforderliche Quantität Silberlösung zur Verwendung gekommen, welche in einem bestimmten, gleichbleibenden Verhältniss zu der oxydirten Substanz stehen muss. Bei der Ausführung dieser Bestimmung kam es darauf an, diesen letztgenannten Punkt, als die Endreaction, ausfindig zu machen. Dazu ist eine 4—5malige Wiederholung des Versuchs nöthig, welche indessen in weniger als einer Viertelstunde, wenn man gleichzeitig zwei Proben anstellt, ausgeführt werden kann. Zu einer Bestimmung dienen immer 10 ccm. Harn beziehungsweise Homogentisinsäurelösung. Die Ausführung geschah in folgender Weise:

10 ccm. des filtrirten Harns wurden mit 10 ccm. concentrirtem Ammoniak versetzt, ohne Verzug lässt man zu der Mischung einige Cubikcentimeter von $\frac{1}{10}$ -Normalsilberlösung zufließen. Nach 5 Minuten gibt man 5 Tropfen einer mässig concentrirten Chlorcalciumlösung und 10 Tropfen Ammoniumcarbonat hinzu, schüttelt um, filtrirt sofort ab und prüft das Filtrat mit Silberlösung; tritt keine weitere Reduction ein,

so versetzt man eine zweite Probe des Filtrats mit Salzsäure, wird dabei Chlorsilber abgeschieden, so wiederholt man den Versuch mit einer kleineren Menge von Silber unter genau den gleichen Bedingungen. Im umgekehrten Falle, wenn das Filtrat vom Silberniederschlage noch reducirt, wird beim zweiten Versuche eine etwas grössere Menge Silberlösung verwendet, bis der Punkt erreicht ist, wo das Filtrat des Silberniederschlages keine der beiden Reactionen mehr zeigt.

Die Methode hat sich als bequem und sicher bei einer grossen Zahl von Bestimmungen bewährt. Sie dürfte sich auch für die Ermittlung anderer leicht oxydabler Stoffe gut eignen. Die Resultate sind auch bei Lösungen von verschiedener Concentration constant. Wenn mehr als 10 ccm. $\frac{1}{10}$ -Normalsilberlösung auf 10 ccm. Harn oder Homogentisinsäurelösung verbraucht wurden, wurden statt 10 ccm. 20 ccm. Ammoniak verwendet.

Die Controlbestimmungen ergaben folgende Resultate:

1. Für 10 ccm. einer 0,2procentigen Lösung der wasserfreien Homogentisinsäure wurden nach 5 Minuten langem Stehen 4,75 ccm. der $\frac{1}{10}$ -Normalsilberlösung, entsprechend 0,0513 gr. Silber verbraucht. Liess man die Mischung $\frac{1}{2}$ Stunde stehen, so waren 5 ccm. der Silberlösung, = 0,054 gr. Silber, erforderlich.

2. Zur Oxydation einer 1procentigen Lösung der wasserfreien Säure waren für 10 ccm. der Lösung 24 ccm. der Silberlösung = 0,259 gr. Silber nothwendig (statt 10 ccm. Ammoniak wurden 20 ccm. in diesem Falle verwendet).

3. 10 ccm. einer 0,2procentigen Lösung der wasserfreien Homogentisinsäure in normalem Harn reducirten nach 5 Minuten 4,9 gr. Silberlösung = 0,053 gr. Silber.

Somit ist zur Oxydation von 1 gr. wasserfreier Homogentisinsäure eine Quantität ammoniakalischer Silberlösung erforderlich, welche ziemlich genau 2,60 bis 2,65 gr. Silber entspricht.

Die Untersuchung des Harns mit der geschilderten Methode ergab an einer Reihe von Tagen, während der Kranke die gewöhnliche Spitalkost erhielt, folgende Resultate:

Datum.	Harnmenge in cbem.	Spec. Gew.	Reduction	
			in cbem. 10-normaler Silberlösung für 10 cbem Harn.	in gr. Silber für die Gesamtmenge des Harns von 24 Stunden.
11. Juni	1750	1,010	6,5	12,28
12. »	1750	1,010	4,5	8,50
13. »	1880	1,010	4,5	9,13
14. »	2100	1,010	5,5	12,47
15. »	2130	1,010	5,0	11,50
16. »	1860	1,012	7,5	15,06
23. »	2080	1,012	7,0	17,72
24. »	2150	1,011	6,0	13,93
29. »	1760	1,012	5,5	10,45
30. »	1960	1,012	6,5	11,64
1. Juli	2080	1,012	6,0	14,60
2. »	2170	1,012	6,0	13,06
3. »	2390	1,0115	6,0	15,48
4. »	2370	1,012	5,5	14,07
Mittel	2030	—	5,8	12,7

Wenn die reducirende Substanz des Harns ausschliesslich Homogentisinsäure ist, so würde sich auf Grund des früher ermittelten Reductionsverhältnisses der reinen Säure eine durchschnittliche 24stündige Ausscheidung von 4,0 gr. Homogentisinsäure berechnen. Bei einer mittleren Harnproduction von 2030 cbem. in 24 Stunden würde danach der Harn selbst einen Gehalt von ungefähr 0,226% Homogentisinsäure zeigen. Kirk¹⁾ schätzt in einem von ihm untersuchten Alkaptonharn den Gehalt an Uroleucinsäure zu etwa 0,2%.

Dafür, dass die reducirende Substanz unseres Alkaptonharns lediglich Homogentisinsäure war, spricht in erster Linie der Umstand, dass es nicht gelungen ist, trotz vieler darauf gerichteter Bemühungen, die Gegenwart irgend eines anderen reducirenden Stoffes ausser der genannten Säure im Harn nachzuweisen.

¹⁾ L. c.

Sehr wesentlich sprechen für diese Annahme aber ausserdem noch folgende Erfahrungen:

Setzt man zu normalem Harn so viel Homogentisinsäure, dass eine 0,1procentige Lösung entsteht, und verarbeitet $\frac{1}{2}$ Liter eines solchen Harns, welcher somit 0,5 gr. Homogentisinsäure enthält, zur Darstellung des Bleisalzes in der früher beschriebenen Weise, so erhält man von letzterem gar nichts oder keine nennenswerthe Menge¹⁾.

Als dagegen $\frac{1}{4}$ Liter eines Harns, in welchem 1 gr. Homogentisinsäure gelöst war, in gleicher Weise verarbeitet wurde, erhielten wir 1,169 gr. homogentisinsaures Blei, während die theoretische Ausbeute 1,618 gr. betragen haben würde. In diesem Falle wurden also 72% der dem Harn zugesetzten Säure wieder gewonnen.

Nach diesen Ermittlungen erscheint die Annahme berechtigt, dass bei der Verarbeitung des Alkaptonharns nach der von uns geschilderten Methode nur etwa der 0,1% überschüssende Gehalt des Harns an Homogentisinsäure wirklich gewonnen wird, d. h. dass auf das Liter verarbeiteten Harns ungefähr 1 gr. Homogentisinsäure verloren geht. Diese Schätzungen machen natürlich keinen Anspruch auf grosse Genauigkeit, stehen aber in gutem Einklange mit den durchschnittlich aus dem Harn gewonnenen Mengen von Homogentisinsäure, welche 2 bis 2,5 gr. der rohen Säure aus der Tagesquantität des Harns betragen hat.

Verluste bei der Abscheidung der Säure aus dem Harn werden bedingt: 1. dadurch, dass eine geringe Menge der Säure beim Ausschütteln mit Aether in dem Harn zurückbleibt, 2. durch eine geringe Oxydation der Säure bei der Verarbeitung, durch welche der hierbei beobachtete Chinongeruch bedingt ist, 3. durch die Bildung von Homogentisinsäureester, welcher durch Bleiacetat nicht gefällt wird, endlich 4. durch die Löslichkeit des homogentisinsauren¹⁾ Bleis in überschüssigem Bleiacetat.

Mit dem oben ausgesprochenen Schlusse, dass bei der Verarbeitung des Tagesharns regelmässig 2 bis 2,5 gr. Homo-

¹⁾ Zur Fällung des Bleisalzes wurde bei diesem und beim folgenden Versuche nur je 1 gr. Bleiacetat verwendet.

gentisinsäure, d. i. 3,5 bis 4 gr. Bleisalz verloren gingen, steht in gutem Einklange die Wahrnehmung, dass bei einer erheblichen Steigerung der Homogentisinsäure im Harn das Plus an Säure bei der Darstellung des Bleisalzes fast unverkürzt gewonnen wurde. Ein solcher Fall wird weiter unter beschrieben werden.

3. Die Abstammung der Homogentisinsäure des Alkaptonharns.

Die bis jetzt im Harn von Menschen und Thieren gefundenen aromatischen Verbindungen sind mit Ausnahme des Brenzcatechins sämmtlich als Umwandlungsproducte des Eiweisses nachgewiesen worden.

Am klarsten sind die Verhältnisse bezüglich der Entstehung der flüchtigen Phenole (Phenol und p-Kresol) und der aromatischen Oxy Säuren ermittelt, welche die Producte der im Darm erfolgenden Fäulniss des Tyrosins darstellen. Auch bei den pflanzenfressenden Thieren, welche zum Theil grosse Mengen von Phenolen an Schwefelsäure gebunden im Harn ausscheiden, kann die Entstehung dieser Stoffe nur auf die Fäulniss des Tyrosins im Verdauungstractus zurückgeführt werden. Denn man kennt keinerlei andere Stoffe der Pflanzennahrung ausser dem Tyrosin, welche bei der Fäulniss flüchtige Phenole bilden. Der stärkste Beweis dafür, dass die genannten Stoffe immer aus dem Tyrosin, d. i. dem Eiweiss abstammen, besteht aber in dem Umstande, dass die flüchtigen Phenole aus dem Pferdeharn¹⁾ (welcher sie am reichlichsten liefert) dasselbe relative Verhältniss ihrer einzelnen Bestandtheile, d. h. von Phenol und p-Kresol zeigen, wie die flüchtigen Phenole aus der Fäulniss von Eiweiss²⁾, von Tyrosin³⁾ (bei Luftabschluss) und aus Menschenharn⁴⁾.

Mit gleicher Sicherheit ist die Entstehung der Hippursäure bei ausschliesslicher Fleischnahrung auf die Eiweissfäulniss im Darm zurückgeführt⁵⁾. Sie entsteht aus der bei

¹⁾ E. Baumann, Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 9, S. 1389.

²⁾ E. Baumann u. Brieger, diese Zeitschr., Bd. 3, S. 149.

³⁾ Weyl, diese Zeitschr., Bd. 3, S. 312; E. Baumann, Bd. 4, S. 315.

⁴⁾ Brieger diese Zeitschr., Bd. 4, S. 404.

⁵⁾ Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 131.

der Fäulniss von Eiweiss auftretenden Phenylpropionsäure¹⁾. Die neben der Hippursäure im Harn vorkommende Phenacetursäure²⁾ wird aus der Phenylessigsäure gebildet, welche unter den Fäulnissproducten vom Eiweiss sich findet. Ein wahrscheinlich immer geringer Theil der Hippursäure des Pflanzenfresserharns kann auch aus aromatischen Verbindungen, welche in der Pflanzennahrung als solche enthalten sind, gebildet sein, wofür Versuche von Meissner und Shepard, Löw, Stadelmann und Anderen sprechen³⁾.

Die Abstammung der Indoxylverbindungen des Harns und der aus Skatol und verwandten Stoffen gebildeten Ausscheidungsproducte ist gleichfalls auf die Eiweissfäulniss zurückzuführen, wenn auch der Verlauf des Processes, durch welchen diese Körper entstehen, noch nicht aufgeklärt ist.

Alle genannten Verbindungen der Benzolreihe finden sich im Harn der Thiere nur so lange, als Fäulnissprocesse im Darm bestehen. Werden letztere unterdrückt, so hört die Ausscheidung der aromatischen Verbindungen im Harn auf⁴⁾ (bis auf Spuren aromatischer Oxysäuren, deren Bildung aus dem Tyrosin übrigens auch immer nur durch Spaltpilze erfolgt).

Neuerdings hat Haagen⁵⁾ im Gegensatz zu früheren Beobachtungen Baumann's⁴⁾ gefunden, dass auch die Kynurensäureproduction der Hunde, wenigstens in einem gewissen Grade, abhängig ist von der Darmfäulniss.

Aus Verbindungen, welche keinen Benzolkern enthalten, entstehen im thierischen Organismus niemals aromatische Verbindungen, während diese Körper in grösster Zahl und Mannigfaltigkeit in der Pflanze aus Verbindungen der Sumpfgasreihe gebildet werden. Aus diesem Grunde kann man die Entstehung der aromatischen Verbindungen im thierischen Organismus genauer und weiter verfolgen, als dieses bezüglich der Bildung dieser Stoffe in der Pflanze zur Zeit möglich ist.

¹⁾ E. u. H. Salkowski, D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 648.

²⁾ E. Salkowski, diese Zeitschr., Bd. 9, S. 229 u. 501; Bd. 7, S. 162.

³⁾ Vergl. Salkowski u. Leube, Lehre vom Harn, 1882, S. 131 u. ff.

⁴⁾ E. Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 123 ff.

⁵⁾ Centralbl. med. Wissensch., 1889, S. 214.

Diese Schlüsse¹⁾, welche der Eine von uns vor längerer Zeit ausgesprochen hat, erfahren eine nicht unwesentliche Bestätigung durch den Nachweis der Abstammung der Homogentisinsäure des Alkaptonharns. Dass die Quelle der letzteren nicht in specifischen Bestandtheilen der Pflanzennahrung zu suchen sei, war schon nach den ersten einleitenden Versuchen klar. Da aromatische Verbindungen im Thierkörper aus Kohlenhydraten und Fetten niemals gebildet werden, konnte nur das Eiweiss des Körpers oder der Nahrung die Mutter-substanz der Homogentisinsäure sein. Aber nur die im Eiweissmolecul enthaltenen Atomgruppen, in welchen Benzolreste existiren, konnten nach dem früher Gesagten für die Bildung der Homogentisinsäure in Betracht kommen. Man kennt bis jetzt nur zwei aromatische Verbindungen, welche bei der Spaltung des Eiweissmoleculs durch Säuren oder Alkalien oder lösliche Fermente regelmässig auftreten: das Tyrosin (α -Amidoparoxyphenylpropionsäure) und die α -Amidophenylpropionsäure.

Uns standen für Stoffwechselversuche ausreichende Mengen nur von dem erstgenannten Körper, dem Tyrosin, zur Verfügung.

Die damit angestellten Versuche ergaben nicht nur, dass das Tyrosin die Substanz ist, aus welcher im Organismus unseres Patienten die Homogentisinsäure gebildet wird, sondern dass das demselben zugeführte Tyrosin nahezu vollständig in diese Säure verwandelt wird.

Der Versuch mit der Tyrosineingabe wurde 3mal mit je 10–12,5 gr. ausgeführt, die beiden ersten Male zur Zeit, während der Patient die gewöhnliche Spitalkost erhielt, das dritte Mal bei gleichzeitiger Verabreichung von vorwiegender Fleischnahrung.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Bei den beiden ersten Tyrosinversuchen wurden Aetherschwefelsäurebestimmungen ausgeführt, deren Resultate in der Tabelle verzeichnet sind. Bei einem Versuche wurde die Reductionswirkung des Harns durch die Sauerstoffabsorption bei Gegenwart von Aetzkali ermittelt. Die Harnperiode begann je um 8 Uhr Morgens:

¹⁾ E. Baumann, diese Zeitschr., Bd. 10, S. 125.

Datum.	Härmenge. ccm.	Spec. Gew.	Reduction, gerechnet		Schwefelsäure aus 100 Harn.			Absorption des Sauerstoffs bei gewöhn- licher Temperatur durch den Harn.	Bemerkungen.
			in ccm. 1/10-Normal- Silberlösung für 10 ccm. Harn.	in gr. Silber für die gesamte Härmenge.	A. Sulfate.	B. Aether- schwefel- säure.	A B		
15. VI.	2130	1,010	5,0	11,502	0,0585	0,0059	9,9	—	
16. »	1860	1,012	7,5	15,066	—	—	—	—	
17. »	2530	1,011	11	30,056	0,0589	0,0088	6,6	—	10 gr. Tyrosin im Laufe des Vormittags.
18. »	2300	1,011	5,5	13,662	—	—	—	—	
19. »	2010	1,011	6,5	14,110	0,0778	0,00336	23,1	—	25 ccm. mit 12 ccm. KOH absorbiren 14 ccm. Sauerstoff.
20.	2180	1,011	16	37,670	0,0892	0,0092	9,6	—	25 ccm. + 12 ccm. Kalilauge absorbiren 33 ccm. Sauerstoff.
21. »	2000	1,011	8,5	18,360	0,0925	0,0084	11	—	11,5 gr. Tyrosin von 10 bis 4 Uhr.
22. »	2300	1,010	6,5	16,146	0,0938	0,0071	13	—	25 ccm. absorbiren 19 ccm. Sauerstoff.
13. VII.	1720	1,0135	7,5	13,920	—	—	—	—	
14. »	2100	1,0125	7	15,876	—	—	—	—	
15. »	1800	1,016	21,5	41,796	—	—	—	—	Vom 13. ab Fleischdiät.
16. »	1350	1,0155	12,5	18,225	—	—	—	—	12,5 gr. Tyrosin im Laufe des Nachmittags.
17.	1130	1,0185	14,5	17,698	—	—	—	—	

Nach diesen Bestimmungen musste es sich fragen, ob die Zunahme der Reduction des Harns durch eine vermehrte Ausscheidung der Homogentisinsäure bedingt sei, oder ob nach der Tyrosineingabe neben dieser Säure noch eine andere reducirende Substanz im Harn enthalten sei.

Die Verarbeitung des Harns an den beiden Tyrosintagen ergab eine sehr vermehrte Ausbeute an dem Bleisalze der Homogentisinsäure. In der Folge wurden die einzelnen Darstellungen des Bleisalzes in fortlaufender Reihe gewogen. Es zeigte sich, dass die nach der dritten Tyrosineingabe erzielte Menge dieses Salzes um ca. 10 gr. mehr betrug, als an den dem Versuch vorhergehenden Tagen, ferner dass die an den Tyrosintagen gewonnene Homogentisinsäure keinerlei Beimengungen anderer Stoffe enthielt. Die Säure war an diesen Tagen vielmehr so rein, dass sie schon aus dem Aetherauszuge des Harns nach Verdunsten des Aethers krystallisirte. Das in grosser Menge an den Tyrosintagen gewonnene Bleisalz zeigte den Schmelzpunkt (214°) und alle Eigenschaften des homogentisinsauren Bleis.

Vor und nach dem dritten Tyrosintage wurden die je aus dem Tagesharn erzielten Quantitäten des fast ganz reinen Bleisalzes der Homogentisinsäure gewogen. Dass hierbei erhebliche Verluste nicht zu vermeiden sind, ist früher erörtert worden. Die Annahme, dass diese Verluste annähernd constant bleiben, ist durch unsere Versuche nur innerhalb ziemlich weiter Grenzen bestätigt worden. In der folgenden Tabelle sind die Reductionswerthe und die Ausbeuten an homogentisinsaurem Blei neben einander gestellt, für die Zeit vor und nach dem letzten Tyrosinversuch.

Um eine Vorstellung zu gewinnen über die Grösse des Verlustes an Homogentisinsäure, welche bei der Darstellung des Bleisalzes durch das überschüssige Bleiacetat oder in Form des Esters gelöst bleibt, haben wir die Reduction des Filtrates (inclusive des Waschwassers) vom Bleisalz bestimmt, auf die Gesamtmenge desselben und auf Gramm Silber berechnet; diese Werthe sind in der vorletzten Spalte der Tabelle enthalten.

Datum.	Menge. cbcm.	Spec. Gew.	Reduction des Harns		H ₂ O- freies Bleisalz. gr.	Reduction des Filtrats vom Bleisalz im Ganzen in gr. Ag.	Bemerkungen.
			in cbcm. 1/10-Normal- Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	in gr. Ag für die Tages- menge.			
12. VI.	1910	1,0125	6,5	13,408	—	—	Nahrung Fleisch- diät u. Gemüse.
13. »	1720	1,0135	7,5	13,920	1,734	—	
14. »	2100	1,0125	7	15,876	1,724	3,240	Fleischdiät.
15. »	1800	1,016	21,5	41,796	13,086	3,564	12,5 gr. Tyrosin. Nachmittags, u. Fleischdiät.
16. »	1350	1,0155	12,5	18,225	3,669	2,592	Fleischdiät.
17. »	1130	1,0185	14,5	17,698	3,409	0,486	

An dem Tyrosintage wurde die rohe Säure in 500 cbcm. Wasser gelöst und mit 75 cbcm. Bleiacetatlösung versetzt, während sonst 250 cbcm. Wasser und 30 cbcm. Bleizuckerlösung (1 : 5) verwendet wurden.

Die geschilderten Versuche zeigen, dass das dem Stoffwechsel zugeführte Tyrosin zum weitaus grössten Theile in Form von Homogentisinsäure mit dem Harn ausgeschieden worden ist.

Berechnet man auf Grund der früher ermittelten Reduction der Homogentisinsäure (1 gr. Homogentisinsäure = 2,60 gr. Silber) und des mittleren Reductionswerthes des Harns von 24 Stunden (bei gemischter Nahrung = 12,7 gr. Silber) die Zunahme der Reduction des Harns als Homogentisinsäure, so ergeben sich für die beiden ersten Tyrosinversuche folgende Verhältnisse:

	Reduction des Harns von 24 Stunden		Zunahme der Homogentisin- säure in gr.
	in gr. Silber.	auf Homo- gentisinsäure berechnet. gr.	
Im Mittel von 14 Versuchen bei gemischter Kost . . .	12,7	4,6	—
Nach 10 gr. Tyrosin . . .	30,0	11,5	6,9
Nach 11,5 gr. Tyrosin . . .	37,67	14,2	9,4

Beim dritten Tyrosinversuch ist die Grundlage für die Berechnung insofern verändert, als gleichzeitig fast ausschliess-

liche Fleischnahrung gegeben wurde. Die durchschnittliche Reduction des Harns bei Fleischdiät betrug 16,9 gr. Silber für die Tagesmenge Harn, entsprechend 6,4 gr. Homogentisinsäure. Hiernach ergeben sich für den dritten Tyrosinversuch folgende Verhältnisse:

	Reduction des Harns von 24 Stunden bei Fleischdiät		Zunahme der Homogentisinsäure in gr.
	in gr. Silber.	auf Homo- gentisinsäure berechnet. gr.	
Mittel aus 17 Fleischtagen .	16,9	6,4	—
Nach 12,5 gr. Tyrosin	41,79	15,8	9,4

Bei diesem Versuche wurde durch die Darstellung des Bleisalzes der Homogentisinsäure der Beweis erbracht, dass die Zunahme der Reduction des Harns thatsächlich durch die Mehrausscheidung der Homogentisinsäure bedingt worden ist.

Die verhältnissmässig niedrigen Ausbeuten an Bleisalz der beiden Tage vor dem Tyrosinversuch mit je 1,74 gr. pro Tag wurden an dem Tyrosintage auf 13,08 gr. erhöht. Hier besteht also eine wirkliche Zunahme um 11,34 gr. homogentisinsaures Blei = 7,04 gr. Homogentisinsäure, während die aus der Reduction berechnete Zunahme sich auf 9,4 gr. stellt.

Die Mehrausscheidung der Homogentisinsäure nach der Tyrosineingabe erfolgt fast ganz an dem Tage der Einnahme, eine geringe Vermehrung besteht nur noch an dem nächstfolgenden Tage, welche bei den obigen Berechnungen nicht herangezogen wurde.

Aus allen mitgetheilten Versuchen geht unzweideutig hervor — selbst wenn unsere quantitativen Bestimmungen der Homogentisinsäure noch mit Fehlerquellen behaftet wären, welche uns entgingen —, dass das Tyrosin im Organismus des von uns beobachteten Mannes in Homogentisinsäure beinahe vollständig verwandelt wird. Damit steht in vollkommener Uebereinstimmung unsere Beobachtung, dass der Alkaptonharn bei vorwiegender Fleischdiät um ca. 25% an Homogentisinsäure mehr enthielt, als bei gewöhnlicher Spitalkost. Die folgende Tabelle gibt darüber Aufschluss. In die-

Datum.	Harnmenge, ccbm.	Spec. Gewicht.	Reduction		Homogenisim- saurer Blei aus der Tages- menge.	Reduction des Filtrates vom Bleisalz in gr. Ag.	Bemerkungen.
			in ccbm. 1/10-Normal- Silberlösung für 10 ccbm. Harn.	berechnet in gr. Silber für die Gesamtmenge.			
Mittel von 14 Tagen:	2030	1,011	5,8	12,7	—	—	Bei gewöhnl. Spitalkost.
6. VII.	1700	1,013	9,0	16,534	4,545	—	Reichliche Fleischdiät.
7. »	1900	1,014	8,0	16,416	4,404	—	»
8. »	2350	1,013	7,5	19,035	2,136	—	»
9. »	2035	1,013	7,5	16,483	2,612	—	»
10. »	1480	1,017	10,5	16,783	3,872	—	»
11. »	1610	1,0155	9,5	16,518	2,474	—	»
12. VII.	1910	1,0125	6,5	13,408	—	—	Nahrung Fleisch u. Gemüse.
13. »	1720	1,0135	7,5	13,920	1,734	—	»
14. VII.	2100	1,0125	7,0	15,876	1,724	3,240	Fleischdiät.
17. »	1130	1,0185	14,5	17,698	3,409	0,486	»
18. »	1340	1,017	10,5	15,087	1,419	3,564	»
19. »	1800	1,014	9,0	17,496	—	—	»
20. »	1265	1,016	11,0	15,028	1,528	1,296	»
23. »	1140	1,017	13,5	16,621	3,414	0,648	»
26. »	1640	1,016	10,0	17,712	2,874	4,212	»
27. »	1410	1,0165	13,0	19,796	1,143	4,536	»
28. »	1340	1,0185	11,5	16,643	1,109	5,568	»
29. »	1070	1,018	14,0	16,178	0,893	—	»
31. »	1040	1,020	13,0	14,602	1,342	—	»
Mittel aus 17 Fleischtagen:	1550	—	9,9	16,74	—	—	—

selbe sind auch die täglich aus dem Harn gewonnenen Mengen des Bleisalzes eingetragen, welche wegen der früher angeführten Fehlerquellen erhebliche Schwankungen zeigen. Die Verluste bei der Darstellung des Bleisalzes sind zum Theil dadurch bedingt, dass das Bleisalz in überschüssigem Bleiacetat merklich löslich ist, und dass die Säure beim Abdestilliren des Aethers zum Theil in Homogentisinsäureester verwandelt wird, welche gleichfalls in das Filtrat vom Bleisalz übergeht. Der Ester reducirt Silberlösung wie die Säure. Man kann deshalb über die Grösse dieser beiden Fehlerquellen bei der Gewinnung des Bleisalzes einen Aufschluss gewinnen, wenn man die Reductionsfähigkeit des Filtrates vom Bleisalz wie die des Alkaptonharns im Ganzen ermittelt. Die hierbei gefundenen Werthe sind in der 7. Columne der Tabelle verzeichnet. Sie erklären zu einem guten Theile die Ungleichheiten in der Ausbeute des Bleisalzes.

4. Ueber die Entstehung der Homogentisinsäure aus Tyrosin.

Das dem Organismus in der Nahrung zugeführte oder das durch Spaltung von Eiweiss im Darm gebildete Tyrosin verschwindet unter normalen Umständen vollständig¹⁾, indem es in Kohlensäure, Wasser und Harnstoff umgewandelt wird, wofern es nicht im Darm durch Fäulnisprocesse, d. h. durch Bacterien in Phenole²⁾ und aromatische Oxysäuren³⁾ übergeführt wird. Ausserhalb des Darms kann das Tyrosin bei manchen Krankheiten durch Bacterien in den Organen in dieselben Producte übergeführt werden, welche normal nur im Darm entstehen (Brieger's Fäulniskrankheiten)⁴⁾. Ein Uebergang unveränderten Tyrosins in den Harn ist bis jetzt nur bei

¹⁾ Schultzen und Nencki, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 8, S. 124; Blendermann, diese Zeitschr., Bd. 6, S. 234; Schotten, ebenda, Bd. 7, S. 23.

²⁾ Brieger, diese Zeitschr., Bd. 2, S. 257.

³⁾ E. Baumann, D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 452; diese Zeitschr., Bd. 4, S. 304.

⁴⁾ Brieger, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. III, Heft 3.

den schweren Störungen des ganzen Stoffwechsels, welche die tödtlich verlaufende Phosphorvergiftung und acute Leberatrophie hervorrufen, beobachtet worden. Dabei findet sich im Harn eine mit der Homogentisinsäure isomere Säure, die von Schultzen und Ries¹⁾ entdeckte Oxymandelsäure, welche zu der Homogentisinsäure in keiner näheren Beziehung steht.

Alle aromatischen Verbindungen, welche aus dem Tyrosin durch Fäulnisprocesse innerhalb oder ausserhalb des Organismus erhalten worden sind, ferner die von Blendermann²⁾ aus dem Harn von solchen Kaninchen gewonnenen Substanzen, welchen der ganze Verdauungsapparat mit Tyrosin angefüllt worden war, gehören der Parareihe wie das Tyrosin an; die in ihnen enthaltenen Seitenketten stehen zur OH-Gruppe in der 1,4-Stellung.

Vergleicht man dagegen die Constitution der Homogentisinsäure mit derjenigen des Tyrosins, so zeigt sich, dass zwischen beiden Körpern gar keine näheren oder directeren Beziehungen, als dass sie Benzolderivate sind, existiren, ja man kann wohl sagen, dass sie in ihrer chemischen Zusammensetzung so weit, als es für aromatische Säuren möglich ist, von einander verschieden sind.

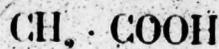
—OH



Tyrosin.

—OH

HO—



Homogentisinsäure.

Würde in den Organen und Geweben des Körpers als solchen die Umwandlung des Tyrosins zur Homogentisinsäure bewirkt, so wäre damit bewiesen, dass aus einem Benzolderivat von bestimmter Constitution jede andere aromatische Verbindung, welche in keinerlei erkennbarem

¹⁾ Chem. Centralbl., 1869, S. 680.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 6, S. 247.

chemischem Zusammenhang zum ersteren steht, gebildet werden kann. Wenn diese Voraussetzung zuträfe, so würde durch diese einzige Thatsache der sichere Boden, welcher durch die chemische Erforschung der Einwirkung des thierischen Stoffwechsels auf viele Hunderte von organischen Verbindungen in den letzten Jahrzehnten geschaffen worden ist, verloren gehen. Da in solchem Falle Alles aus Allem durch den Stoffwechsel gebildet werden könnte, würde die Untersuchung einzelner chemischer Vorgänge des Lebensprocesses so gut wie gegenstandslos werden¹⁾.

Wir glauben nicht, dass ein solcher Schluss überhaupt zulässig ist, weil er in Widerspruch treten würde mit den in sehr grosser Zahl vorliegenden Erfahrungen, welche durch die sorgfältigsten Beobachter festgestellt sind, über die Verwandlungen der verschiedensten organischen Verbindungen im Thierkörper. Prozesse, welche dem Uebergang des Tyrosins in Homogentisinsäure vergleichbar wären, würden bei jenen Untersuchungen sicher nicht durchaus übersehen worden sein.

Für die Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure ist jedenfalls erforderlich, dass zunächst die Phenolhydroxylgruppe des Tyrosins oder der aus diesem gebildeten p-Oxyphenyllessigsäure verschwinde; durch eine gleichzeitige oder nachher erfolgende Oxydation, welche an einem anderen Punkte angreift, werden dann die beiden zu einander in der Parastellung befindlichen HO-Gruppen der Homogentisinsäure in das Molecül eingeführt. Die Umwandlung des Restes der Amidopropionsäure des Tyrosins in den Essigsäurerest der Homogentisinsäure ist endlich ein Vorgang, welcher der Erklärung keinerlei Schwierigkeit darbietet. Nicht so verhält es sich mit der Reduction der Phenolhydroxylgruppe. Obschon

¹⁾ Dann dürften Mittheilungen, wie die kürzlich von Bohland gemachte (D. med. Wochenschr., 1890, No. 46a), dass durch den thierischen Stoffwechsel aus Thymol Indoxyl- beziehungsweise Skatoxylverbindungen gebildet werden, nicht mehr auffällig erscheinen. Dass die Angabe von Bohland auf einer irrthümlichen Beobachtung beruht, hat Blum in unzweifelhafter Weise dargethan. D. med. Wochenschr., 1891, No. 5.

Reductionsprocesse im thierischen Organismus ausserhalb des Darmes verlaufen, wie z. B. die von v. Mering entdeckte Reduction des Chlorals zu Trichloräthylalkohol in der Urochloral-säure, und für die Erklärung des Vorkommens sehr sauerstoff- armer Verbindungen, der höheren Fettsäuren, des Cholesterins der Gallensäuren im Thierkörper die Mitwirkung von Reductionsprocessen bei deren Bildung nicht oder nicht ganz auszuschliessen ist, bleiben diese Vorgänge immer nur gering- fällig hinsichtlich der Reductionsleistung, so weit diese bis jetzt ermittelt ist. Man hat niemals das Verschwinden einer Phenolhydroxylgruppe durch Reduction in den Organen des Thierkörpers beobachtet. Dazu wäre eine stärkere Reductions- wirkung erforderlich, als Wasserstoff in statu nascendi bei niederen Temperaturen auszulösen vermag.

Wollte man aber trotz allem dem, was gegen einen solchen Schluss spricht, annehmen, die Homogentisinsäure sei aus dem im Darm resorbirten Tyrosin, oder einer daraus gebildeten Oxysäure (p-Oxyphenylelessigsäure, p-Oxyphenyl- propionsäure) durch einen eigenartigen, ungewöhnlichen Pro- cess in den Geweben entstanden, so bliebe noch die voll- kommen unerklärte Thatsache bestehen, wesshalb dieser Pro- cess nur in sehr seltenen Fällen bei sonst gesunden Personen eintritt. Man dürfte sich hierbei keineswegs auf eine Analogie mit dem Diabetes oder der Cystinurie berufen, denn bei letzt- genannten Erscheinungen handelt es sich nicht um die Bil- dung eines eigenartigen Körpers, sondern darum, dass ein dem Stoffwechsel zugeführter Stoff (Zucker) oder intermediäre Producte des Stoffwechsels (Zucker und Cystin) den Organis- mus unverändert passiren. Für diese Auffassung des Diabetes sprechen in erster Linie die durch ihre klaren Resultate aus- gezeichneten Arbeiten von Mering's über den Phloridzin- diabetes. Für das Cystin ergibt sich dieser Nachweis aus den Arbeiten über die Mercaptursäuren¹⁾, aus den Untersuchungen von Goldmann²⁾ über das Verhalten des Cystins im Thierkörper

¹⁾ Baumann und Preusse, diese Zeitschr., Bd. 5, S. 309.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 9, S. 260.

und — last not least — aus der Mittheilung von E. Külz¹⁾, dass das Cystin (oder eine ihm sehr nahe stehende Substanz) bei der Pankreasverdauung von Eiweiss gebildet werden könne.

Die Annahme, dass auch die Homogentisinsäure ein intermediäres Product des Stoffwechsels sei, erscheint zwar von vornherein ausgeschlossen, wir haben aber doch nicht unterlassen, sie durch den Versuch zu prüfen. Wäre sie richtig, so würde die dem Stoffwechsel von aussen zugeführte Homogentisinsäure, ebenso wie es beim Traubenzucker und dem Cystin normaler Weise geschieht, verschwinden. Das ist aber bei der Homogentisinsäure, wie weiter unten gezeigt wird, ganz und gar nicht der Fall.

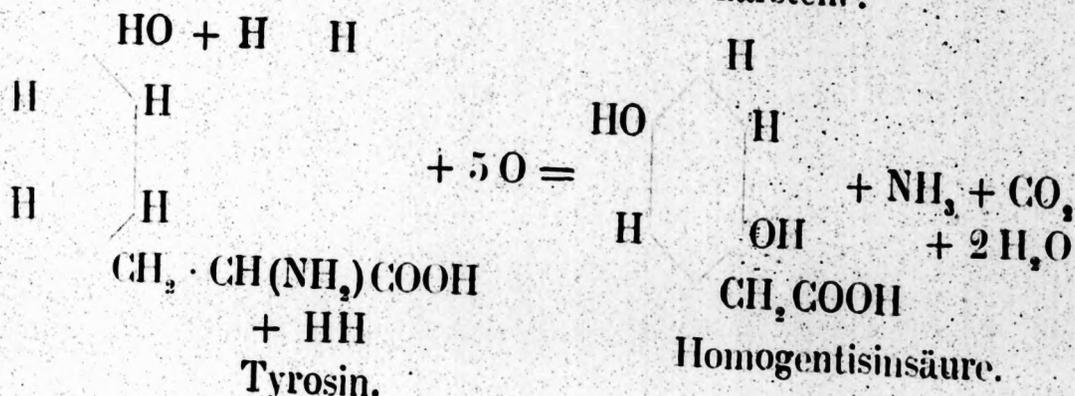
Während nach dem Ausgeführten keinerlei Möglichkeit vorliegt, durch die normal in den Geweben des Thierkörpers verlaufenden Prozesse die Verwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure zu erklären, bietet sich eine solche dar, wenn man den chemischen Vorgang der Einwirkung von «Hefen» mit der Homogentisinsäurebildung aus Tyrosin vergleicht. Der chemische Process, welcher bei der alkoholischen Gährung die Spaltung des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlensäure bewirkt, und ebenso der Vorgang der Milchsäuregährung bestehen in einer gleichzeitigen Oxydation und Reduction innerhalb eines und desselben Molecüls, oder wie Hoppe-Seyler²⁾ in seiner lichtvollen Darlegung der durch die Gährungen bewirkten Umwandlungen es darstellt, in einem Uebergang des Hydroxylsauerstoffs an ein anderes Kohlenstoffatom, welches dann weiter (bei der alkoholischen Gährung) zu Kohlensäure oxydirt wird.

Bei der alkoholischen Gährung des Traubenzuckers findet unzweifelhaft die Reduction von Hydroxylgruppen, die Verwandlung des Alkoholrestes CH_2OH in die CH_3 -Gruppe statt. Diese Leistung ist aber dem Ersatz der Phenylhydroxylgruppe im Tyrosin durch Wasserstoff ungefähr gleichwerthig.

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, 1890.

²⁾ Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, Berlin 1877, S. 121.

Durch eine gleichzeitig erfolgende Oxydation, welche an anderen Kohlenstoffatomen des Tyrosinmoleculs angreift, wird dessen Umwandlung zu Homogentisinsäure vollendet, welche danach in folgender Weise sich darstellt:



Der Unterschied der Homogentisinsäurebildung aus Tyrosin von der Umwandlung des Traubenzuckers in Alkohol und Kohlensäure besteht somit wesentlich darin, dass die gleichzeitige Oxydation und Reduction des Tyrosinmoleculs nicht zu einem Zerfall desselben, wie es beim Traubenzucker der Fall ist, führt. Die Ursache davon kann wohl in dem festen Zusammenhalt des Benzolringes liegen.

Auf Grund obiger Darlegungen sind wir zu dem Schlusse gelangt, dass die Bildung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin nicht durch eine an sich unerklärbare abnorme Function des Stoffwechsels in den Geweben bedingt, sondern als eine Wirkung einer besonderen Art von Mikroorganismen anzusehen sei.

Mit diesem Schlusse sind wir vor die weitere Frage gestellt, wo diese Organismen zu suchen seien. Es ist bis jetzt nie beobachtet worden, dass Mikroorganismen in den Organen von Menschen, während des ganzen Lebens ohne Störungen hervorzurufen, gleichmässig sich fortentwickelt hätten, während im Darm Culturen von einer grossen Zahl verschiedener Bacterien stets sich erneuern. v. Udránszky und E. Baumann¹⁾ haben vor Kurzem die Thatsache festgestellt, dass zuweilen Bacterien, welche specifische, wenn

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 13. S. 562, und Bd. 15, S. 77.

auch nicht giftige Producte, die Diamine, durch ihren Lebensprocess liefern, im Darm eines Individuums dauernd, d. h. während Jahren, existiren können. Diese Bacterien sind nicht durch Reinculturen, sondern durch ihre Stoffwechselproducte, das Cadaverin und Putrescin Brieger's, in dem Darm-inhalte constatirt worden. Sie fehlen im Darm anderer gesunder oder kranker Personen. Ihr Vorkommen ist, wie es scheint, ungefähr ebenso selten als die Alkaptonurie. Es lag nahe, die Ursache der Alkaptonurie in dem Vorhandensein von Mikroorganismen besonderer Art gleichfalls im Darm zu suchen. Allein unsere in dieser Richtung unternommenen Versuche haben zu keinem beweisenden Abschlusse geführt, wenn auch einer derselben im Sinne der entwickelten Theorie geltend gemacht werden kann.

Die Darmentleerungen des Mannes, welcher die Homogentisinsäure lieferte, waren stets frei von dieser Säure. Wenn die Bildung der Homogentisinsäure im oberen Theile des Darmrohres erfolgt, und die ihre Bildung bedingenden Mikroorganismen in den unteren Parthien des Darms zu Grunde gehen, so wäre der Umstand, dass die Homogentisinsäure in den Fäces sich nicht findet, wohl verständlich.

Auch als frische Darmentleerungen mit Tyrosin und Wasser in verschlossenen Gefässen einige Tage auf Bluttemperatur erwärmt wurden, konnte eine Bildung von Homogentisinsäure nicht nachgewiesen werden.

Da das Salol, nach den darüber vorliegenden Erfahrungen, eine desinficirende Wirkung besonders im oberen Theile des Darmrohres zeigt, wurden dem Alkapton-Patienten der chirurgischen Klinik an drei Tagen hinter einander je 6 gr. Salol verabreicht, welches ohne Störungen zu machen ertragen wurde. Der danach entleerte Harn zeigte am dritten Tage ein starkes Heruntergehen des Reductionsvermögens unter den Mittelwerth, während an den ersten beiden Tagen kein Unterschied zu bemerken war, wie aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist:

Datum.	Harnmenge. cbcm.	Spec. Gew.	Reduction, gerechnet		Bemerkungen.
			in cbcm. 1/10-Normal- Silberlösung für 10 cbcm. Harn.	in gr. Silber für die Gesamt- menge.	
Mittel aus 14 tägiger Beobachtung	2030	—	5,8	12,7	Bei gewöhnl. Spitalkost.
24. VI.	2150	1,011	6	13,932	do.
25. >	1970	1,012	7	14,893	do. 6 gr. Salol.
26. >	1520	1,014	8,5	13,954	do. 6 gr. Salol.
27. >	1840	1,013	4,5	8,942	do. 6 gr. Salol.
28. >	1435	1,014	8,11	12,398	do.
29. >	1760	1,012	5,5	10,454	do.

Die Salicylsäureausscheidung war erst 3 Tage nach der letzten Salolgabe beendigt.

Da nach Eingabe von Salicylsäure¹⁾ sowohl als von Phenol²⁾ stark reducirende Stoffe in den Harn übergehen, haben wir am Menschen Controlversuche über die Menge dieser Producte ausgeführt. Für die Anstellung eines solchen Versuches sind wir Herrn cand. med. Dünschmann zu bestem Danke verpflichtet. Der nach 6 gr. Salol (welches in Gaben von 4 und 2 gr. genommen wurde) entleerte Harn zeigte bei einem spec. Gewichte von 1,025 ein Reductionsvermögen von 1,5 cbcm. 1/10-normater Silberlösung für 10 cbcm. Harn, während der normale Harn vor- und nachher nicht reducirt. Bei einem anderen, mit einer zweiten gesunden Person angestellten Controlversuch ergab sich nur eine unbedeutende Reduction des stark sauren Harns, welcher nach 6 gr. Salol entleert wurde³⁾.

Wenn die an den Saloltagen beobachtete Reduction des Alkaptonharns auch nur zu einem merklichen Theile auf Umwandlungsproducte des Salols zurückzuführen wäre [wofür auch der leichte Uebergang dieses Harns in die alkalische

¹⁾ Vergl. Fleischer, Berl. klin. Wochenschr., 1875, No. 39–40.

²⁾ Baumann und Preusse, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1879, S. 245.

³⁾ Der mit Salzsäure gekochte Harn reducirt dagegen stark die ammoniakalische Silberlösung.

Gährung, durch welche die Reductionsfähigkeit des sogen. Carbolharns vermehrt wird, sprechen könnte¹⁾], so wäre die nur am dritten Tage bemerkte Abnahme der Homogentisinsäure viel erheblicher und wäre auch an den anderen Tagen thatsächlich vorhanden. Es ist leider nicht möglich, in diesem Falle durch geeignete Controlversuche einen sicheren Maassstab der Berechnung zu gewinnen.

Das Resultat der Salolversuche ist danach, wenn es auch im Sinne unserer Theorie geltend gemacht werden kann, doch nicht so bestimmt und unzweideutig, dass es als ein Beweis dieser Theorie gelten kann.

Leider ist es uns nicht möglich gewesen, weitere Versuche über die Wirkung desinficirender Mittel auf die Homogentisinsäureproduction anzustellen. Auch weiter beabsichtigte Stoffwechselfersuche mit Phenyllessigsäure und Phenylpropionsäure, welche einen weiteren Aufschluss über die Beziehungen der Homogentisinsäurebildung zu anderen aromatischen Körpern geben konnten, unterblieben, weil der solchen Versuchen abholde Patient bald die Klinik verliess, um in seine Heimath zu reisen.

Für die Ausführung und Ueberwachung der früher geschilderten Stoffwechselfersuche sind wir Herrn Dr. Bräuninger, Assistent der Chirurgischen Klinik hier, zu bestem Danke verpflichtet.

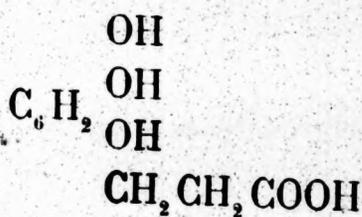
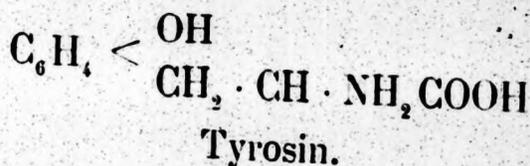
Die von uns angestrebte Beweisführung, dass die Homogentisinsäure im Darm durch die Lebensthätigkeit von Mikroorganismen aus dem Tyrosin entstehe, ist somit zu einem Abschlusse nicht gelangt, und an diesem Punkte würden weitere Untersuchungen über die Alkaptonurie einzusetzen haben.

Wie auch das Endergebniss der weiteren experimentellen Prüfung der von uns aufgestellten Theorie ausfallen mag, die bis jetzt ermittelten Thatsachen liefern in jedem Falle neue Gesichtspunkte für die Beurtheilung mancher Erscheinungen:

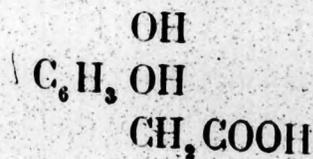
Da die Bildung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin — ganz allgemein gesagt — durch Lebensprocesse feststeht,

¹⁾ Vergl. Baumann und Preusse.

ist die Annahme nicht unberechtigt, dass die der Homogentisinsäure so nahe verwandte Uroleucinsäure Kirk's durch einen ähnlichen Process wie jene gebildet werde. Die Ausscheidung der Uroleucinsäure wird dann, wenn sie, wie in Kirk's Fällen, die Alkaptonurie bedingt, nach Eingabe von Tyrosin oder durch Fleischnahrung in gleicher Weise, wie in unserem Falle die Homogentisinsäure, vermehrt werden. Die Beziehungen von Tyrosin, Homogentisinsäure und Uroleucinsäure lassen die folgenden Formeln, bei welchen die Stellung der HO-Gruppen nicht definirt ist, erkennen:



Uroleucinsäure
(Trioxyphenylpropionsäure).



Homogentisinsäure
(Dioxyphenylessigsäure).

Bis jetzt ist niemals eine Umwandlung des Tyrosins durch Fäulnisprocesse in Indol geglückt, obwohl oft Versuche zu diesem Zwecke angestellt worden sind. Die Annahme eines solchen Processes bietet im Princip, nachdem die Umwandlung des Tyrosins zu Homogentisinsäure erwiesen ist, keine Schwierigkeit mehr dar; vielleicht kommt es nur darauf an, die richtigen Culturen und die dafür erforderlichen Bedingungen zu finden.

Durch die Anführung dieser Möglichkeit soll indessen der von Nencki¹⁾ kürzlich entwickelten Theorie der Entstehung von Skatollessigsäure, Skatolcarbonsäure, Skatol und Indol aus einer hypothetischen Skatolamidoessigsäure ihre Berechtigung nicht abgesprochen werden; denn dieselbe bringt eine völlige Analogie der Abstammung der genannten Stoffe mit dem von E. Baumann²⁾ thatsächlich geführten Nach-

¹⁾ Monatshefte für Chemie, Bd. 10, S. 506.

²⁾ D. Chem. Ges., Bd. 12, S. 1450; Bd. 13, S. 279.

weis der Entstehung von p-Oxyphenylpropionsäure, p-Oxyphenyllessigsäure, p-Kresol und Phenol zur Anwendung.

Die Möglichkeit einer Reduction des Tyrosins zu Phenylpropionsäure, welche nach E. und H. Salkowski¹⁾ bei der Fäulniss vom Eiweiss statt haben kann, wird durch die vorliegenden Versuche gleichfalls in ein anderes Licht gestellt. Man kann dieselbe trotz der negativen Ergebnisse der Versuche, welche in dieser Richtung von Schotten²⁾, von Baumann³⁾ und unter anderen Bedingungen von K. Baas⁴⁾ angestellt worden sind, nicht mehr in Abrede stellen, wenn sie in Wirklichkeit auch nicht öfter als beispielsweise die Alkaptonurie zu Stande kommen mag.

Seitdem man Reinculturen von Bacterien zur Spaltung von Eiweiss und verwandten Stoffen verwendet, hat sich immer deutlicher herausgestellt, dass bestimmte Bacterien nicht alle bei der gemischten Fäulniss gefundenen Zersetzungsproducte besonders aus der aromatischen Reihe liefern, und dass es neben anderen Bedingungen immer darauf in erster Linie ankommt, dass im einzelnen Falle die günstigste Art von Spaltpilzen zur Verwendung gelangt⁵⁾. Die Prüfung derartiger Culturen auf Homogentisinsäure, auf deren Vorhandensein auch eine starke Dunkelfärbung aufmerksam machen könnte, würde zunächst am besten so geschehen, dass man mit Ammoniak versetzt und die Verfärbung der Flüssigkeit beobachtet, die dann so wie bei dem Alkaptonharn unter Sauerstoffabsorption eintreten würde.

5. Ueber das Verhalten der Homogentisinsäure im Organismus.

Für manche der früher erörterten Fragen war es von Interesse, zu erfahren, ob und wie die dem Organismus von Aussen zugeführte Homogentisinsäure verändert wird.

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 7, S. 450.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 8, S. 61.

³⁾ Ebend., Bd. 7, S. 451.

⁴⁾ Ebend., Bd. 11, S. 185.

⁵⁾ Nencki, l. c.; ferner Weyl und Kistasato. Zeitschr. Hyg., Bd. 8, S. 409; Lewandowski, D. med. Wochenschr., 1890, S. 1186 (No. 51).

Wir gaben deshalb einem Hunde (von 12 Kilo) 4,5 gr. reine Homogentisinsäure, in Dosen von 1,5 gr. auf 3mal. 2 Stunden nach der letzten Gabe wurden 20 ccm. dunkel gefärbter Harn entleert; am anderen Morgen wurden noch 90 ccm. Harn geliefert, der schwarzbraun gefärbt war, ammoniakalische Silberlösung, ebenso Fehling's Lösung stark reducirte und alkalische Reaction zeigte; die Wismuthprobe wurde nicht reducirt.

Auch der am zweiten und dritten Tage nachher entleerte Harn war dunkelbraun gefärbt; dieser Harn reducirte ammoniakalische Silberlösung nur noch, wenn er zuvor mit Salzsäure erwärmt war. Auch am vierten Tage waren diese Erscheinungen am Harn, wenn auch in geringerem Grade, noch wahrnehmbar.

An allen Tagen war die Aetherschwefelsäure auf Kosten der Sulfatschwefelsäure stark vermehrt, wie die folgenden Bestimmungen zeigen:

Datum	Harnmenge.	Schwefelsäure H_2SO_4 aus 100 ccm. Harn		A B	Bemerkungen.
		aus den Sulfaten A.	aus den Aether- schwefels. B.		
10. XI.	—	—	—	—	Eingabe von 4,5 gr. Homogentisinsäure.
11. »	110	0,1968	0,0454	—	Harn schwarzbraun.
12. »	160	0,0538	0,0681	0,79	Harn dunkelbraun.
13. »	330	0,0559	0,0934	0,6	Harn dunkel.
14. »	265	0,0529	0,0631	0,84	Harn heller.
15. »	210	0,0631	0,0395	1,6	Harn heller.

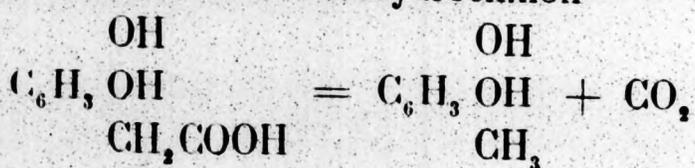
Der Harn vom 11. beziehungsweise das von der Schwefelsäurebestimmung übrige Filtrat wurde wie der Alkaptonharn auf Homogentisinsäure verarbeitet; dabei wurde 0,250 gr. reines homogentisinsaures Blei, welches den Schmelzpunkt 214° zeigte, gewonnen. Neben diesem fand sich in dem mit Säure behandelten Harn ein Körper, der ganz wie Hydrochinon sich verhielt. Er wurde in dem Aetherauszug von der Homogentisinsäure durch Schütteln mit schwacher Soda-

lösung, welche die Säure aufnahm, getrennt. Beim Verdunsten des Aethers blieb der hydrochinonartige Körper zurück und wurde durch Umkrystallisiren gereinigt. Da seine Menge zur Analyse zu gering und die Substanz noch nicht ganz rein war, wurde sie in wässriger Lösung benzoylirt; das Benzoylproduct wurde aus warmem Weingeist, in welchem es viel leichter als das Dibenzoylhydrochinon sich löste, gereinigt. Die hierbei in kleiner Menge erhaltenen Kryställchen schmolzen bei 113°, das Dibenzoylhydrochinon schmilzt bei 199°. Eine Probe des zum Vergleich dargestellten Dibenzoyltoluhydrochinons schmolz bei 121°. Darnach ist es in hohem Grade wahrscheinlich, dass die Homogentisinsäure zum Theil im Organismus in Kohlensäure und Tolhydrochinon gespalten worden ist, welches letztere auch an den folgenden Tagen in Form von Aetherschwefelsäure ausgeschieden wurde. Unveränderte Homogentisinsäure wurde jedenfalls nur an dem der Eingabe folgenden Tage mit dem Harn ausgeschieden. Der Hund war während der Dauer des Versuches vollständig munter und gesund.

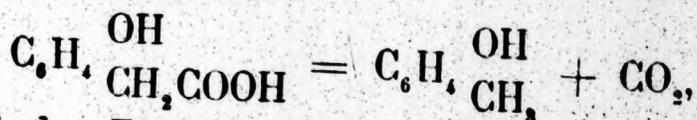
Aus den am Tage nach der Eingabe der Homogentisinsäure gelieferten Fäces des Thieres wurde durch Ausschütteln mit Aether, nachdem mit Schwefelsäure angesäuert war, eine kleine Menge von unveränderter Säure erhalten, welche 0,207 gr. reines homogentisinsaures Blei vom Schmelzpunkt 214—215° ergab.

Da die in kurzer Zeit erfolgte Darreichung von 4,5 gr. Homogentisinsäure an einen kleinen Hund eine ausserordentlich grosse Dosis darstellt, so ergibt sich aus dem Versuch die vollkommene Ungiftigkeit der Säure. Der Uebergang einer kleinen Menge der unveränderten Säure in die Fäces kann unter diesen Umständen nicht dagegen sprechen, dass beim Menschen die Säure im Darm gebildet wird, obwohl sie hier in den Darmausleerungen nicht zu finden war.

Die Spaltung der dem Hunde verfütterten Homogentisinsäure in Kohlensäure und Tolhydrochinon



ist ganz analog der Spaltung der p-Oxyphenyllessigsäure in p-Kresol und Kohlensäure:



welche bei der Fäulniss erfolgt. Es ist daher der Schluss berechtigt, dass diese Spaltung der Homogentisinsäure, so weit sie beim Hunde stattfand, im Darm durch die dort bestehenden Fäulnissprocesse bewirkt wurde.

Der Umstand, dass im Darm des Alkaptonmannes eine solche Spaltung der Homogentisinsäure gar nicht erfolgt, da die Aetherschwefelsäureausscheidung nie vermehrt war, kann wohl durch die Annahme erklärt werden, dass die Homogentisinsäurebildung nur im obersten Theile des Darmes vor sich ging, wo noch keine Fäulniss besteht, und dass die in der Zeiteinheit gebildeten kleinen Mengen von Homogentisinsäure resorbirt wurden, bevor sie mit den Fäulnissprocessen selbst in Berührung kamen.

Es ist indessen selbstverständlich, dass diese Annahme einer weiteren experimentellen Prüfung unterzogen werden muss.

Da der Alkaptonharn das ihm eigenthümliche Verhalten nicht einer bestimmten Substanz in jedem Falle verdankt, sondern bald die Homogentisinsäure, bald die Uroleucinsäure seine Eigenschaften bedingt, empfiehlt es sich, den von Bödeker eingeführten Namen, der ein sehr sachgemässer ist, wieder in Gebrauch zu nehmen, was wir in der vorliegenden Arbeit schon gethan haben.

Durch die bisherigen Ermittlungen ist es indessen nicht ausgeschlossen, dass es Fälle von Alkaptonurie gibt, bei welchen ausser den genannten Säuren noch andere, ihnen mehr oder weniger verwandte, Stoffe die Ursache der Alkaptonurie bilden. Es wird daher vielleicht auch in Zukunft die Alkaptonurie ein werthvolles Hilfsmittel sein, um unser Wissen im Gebiete der allgemeinen Stoffwechselfvorgänge zu erweitern und zu vertiefen.

Freiburg i. B., 6. Januar 1891.