

## Ueber die Darstellung einer krystallinischen Harnalbumose.

Von

**Alide Grutterink** und **Cornelia J. de Graaff,**  
Krankenhausapotheker. Apotheker.

Mit einer Tafel.

(Mittheilung aus dem chem. Laboratorium des städtischen Krankenhauses zu Rotterdam.)  
(Der Redaction zugegangen am 26. December 1901.)

Ende April wurde im städtischen Krankenhaus ein Patient aufgenommen, dessen Harn grosse Mengen eines Eiweisskörpers enthielt. Dr. Sikemeijer, der behandelnde Assistenzarzt, bemerkte ein merkwürdiges Verhalten des Harns den von ihm benutzten Eiweissreagentien gegenüber. Während Esbach's Reagens und Salpetersäure besonders starke Reactionen gaben, erhielt er mit Ferrocyankalium und Essigsäure nur allmählich einen Niederschlag.

Eine genauere Untersuchung wurde von uns angestellt: die Kochprobe, wobei das zuerst gebildete Coagulat sich beim Sieden fast ganz löste und beim Erkalten wieder erschien, bewies uns, dass wir hier mit einem Fall von Bence-Jones'scher Albumosurie zu thun hatten.

Damals hatte der Patient noch keine äusserlichen Merkmale einer Knochenerkrankung; diese stellten sich erst in den letzten Monaten seines Lebens ein. Bei der Section sind keine Tumoren gefunden worden; die histologische Untersuchung der Knochen ist noch nicht beendet. Dr. Hijmans van den Bergh, Oberarzt an dieser Krankenanstalt, wird später an anderem Ort ausführlich über den klinischen Fall berichten.

Der fast immer dunkel gefärbte Harn hatte ein ziemlich hohes specifisches Gewicht: Anfangs 1,020, später 1,030—1,044.

Mit steigender Concentration sank die Harnmenge von mehr als 1 Liter auf 300—400 ccm. Oft setzte sich nach einigem Stehen ein starkes Uratsediment ab: Urobilin, Indican und Zucker wurden nicht gefunden. Der Harnstoffgehalt wurde nach Mörner-Sjöqvist bestimmt und ca. 1,5—1,9% gefunden. Bei mikroskopischer Untersuchung fanden sich immer merkwürdig viele Oxalatkrystalle nebst Leucocyten, Epithelien und spärlichen Cylindern. Globulitenartige Ausscheidungen des Eiweisskörpers wurden niemals beobachtet. Ebenso wenig zeigte der Harn die von Magnus-Levy erwähnte geringe Neigung zur Fäulniss. Anfangs enthielt er 4% Eiweiss, später (November) 7%, bestimmt durch Wägung des Alkoholniederschlags unter Abzug der Asche. Die abgeschiedene Tagesmenge wechselte von 16—30 g.

In den letzten Jahren sind mehrere Fälle von Bence-Jones'scher Albumosurie bekannt und mehr oder weniger ausführlich beschrieben worden.<sup>1)</sup> Ausser Noel Paton, der seinen Eiweisskörper in millimeterlangen Nadeln im Harn auskrystallisirt fand, ist Magnus-Levy der einzige, der einen dem menschlichen Organismus entstammenden pathologischen Eiweisskörper zur Krystallisation gebracht hat. Seine Versuche, Krystalle zu erhalten nach Hofmeister's Methode durch freiwillige Verdunstung der ammoniumsulfathaltigen Lösung, schlugen fehl. Erst als eine Lösung des Körpers, die etwas weniger als 40 Volumprocente gesättigter Ammonsulfatlösung enthielt, in verschlossener Flasche bei Zimmertemperatur fortgestellt wurde, zeigten sich nach Ablauf von vier Monaten millimetergrosse Krystalle in Drusen an den Wänden der Flasche ausgeschieden. Diese Krystalle liessen sich in gewöhnlicher Art durch Auflösen in Wasser und Versetzen mit gesättigter Ammonsulfatlösung bis zur beginnenden Trübung umkrystallisiren. Magnus-Levy schreibt: «trotz Wiederholung der Versuche unter gleichen äusseren Bedingungen, trotz Impfung mit den vorhandenen Krystallen, trotz aller erdenklichen Variationen,

1) Ausführliche Litteraturangaben siehe Magnus-Levy. Ueber den Bence-Jones'schen Eiweisskörper H.-S. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXX. S. 200.

die ein ganzes Jahr hindurch fortgeführt wurden, gelang es nicht, weitere Krystalle zu gewinnen. Seine Ausbeute war gering, ca. 1 g, und entstammte einer einzigen Flasche.

Angeregt durch das einmalige Gelingen der Krystallisationsversuche Magnus-Levy's thaten wir unser Möglichstes, unseren Eiweisskörper zur Krystallisation zu bringen. Der Harn wurde in gewöhnlicher Weise mit dem doppelten Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, der entstandene Niederschlag mit verdünnter Salzlösung ausgewaschen, in Wasser gelöst, durch oft wiederholtes Ausfällen und Lösen so weit wie möglich gereinigt und als Niederschlag aufbewahrt. Ein brauner Farbstoff konnte in dieser Weise nicht ganz entfernt werden, ein Theil blieb auf dem Filter zurück, wenn eine zur Lösung des Niederschlags nicht völlig genügende Menge Wasser benutzt wurde. Nur einmal gelang es in der Art, die Flüssigkeit ganz zu entfärben. Sie wurde darum gesondert weiterbehandelt und nach der von Magnus-Levy erwähnten Methode zu Krystallisationsversuchen verwendet. Die eine Hälfte (die Reaction war fast neutral, höchstens etwas sauer gegen Lackmus) wurde in verschlossener Flasche bei Zimmertemperatur der Krystallisation überlassen. Hier so wie bei allen späteren Versuchen wurde ein kleines Stück Thymol zugesetzt zur Verhinderung der Fäulniss. In dieser Flasche hat sich bis jetzt, nach ca. 8 Monaten, noch kein einziger Krystall gebildet.

Die zweite Hälfte, etwa 300 ccm., erhielt einen Tropfen verdünnter Schwefelsäure: in dieser Flüssigkeit fanden sich nach etwa 4 Monaten bei mikroskopischer Untersuchung des geringen an den Boden angehefteten Niederschlags Globuliten und dazwischen einzelne winzige Nadelchen, deren Eiweissnatur noch nicht festzustellen war. Die Flasche wurde wieder verschlossen fortgestellt. Nach weiteren 2 Monaten hatte sich der Bodensatz vermehrt; er bestand aus kleinen in Drusen an die Wände angehefteten Krystallen, bei 200facher Vergrößerung deutliche Stäbchen. An diesen wurden die von Wichmann<sup>1)</sup> für Albuminkrystalle angegebenen Reactionen und Färbungsversuche angestellt.

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXVII, S. 575.

Zu einem Tropfen des Bodensatzes wurde auf dem Objectglas ein kleiner Permanganatkrystall gefügt; die in der Nähe liegenden Krystalle ziehen das Permanganat an sich, indem sie sich hell bis dunkelbraun färben unter Beibehaltung ihrer Gestalt. Nach einigen Minuten hat sich die Mutterlauge völlig entfärbt, die Krystalle lassen sich auswaschen, trocknen und in Canadabalsam aufbewahren.

Auch organische Farbstoffe werden von den Krystallen begierig angezogen; Säurefuchsin, Saffranin, Methylenblau u. s. w., in kleinen Portionen zugesetzt, färben lebhaft, indem die Mutterlauge, wie oben, völlig entfärbt wird.

Säuren, wie Pikrinsäure und Chromsäure, färben gelb, Goldchlorid färbt intensiv gelb, Jodjodkalium braun, die Krystallformen bleiben unverändert. Millon's Reagens färbt schon in der Kälte nach einiger Zeit schön roth, aber die Krystalle büßen dabei ihre Form etwas ein, indem sie sich krümmen.

Bei einem Versuch, die Krystalle nach mikrochemischer Art durch Abziehen der Mutterlauge und Auswaschen mit Wasser auf dem Objectglase zu reinigen, stellte es sich heraus, dass die Krystalle sich sehr schwer in Wasser lösen, während die amorphen Theile beim Auswaschen leicht gelöst werden. Wurde jetzt das Wasser allmählich durch Alkohol ersetzt, so behielten die Krystalle ihre Form: sie lassen sich also durch Alkohol fixiren.

Die Krystalle sind doppelbrechend, aber so schwach, dass die Doppelbrechung nur unter Anwendung der Gypsplatte zu beobachten ist.

Da wir jetzt wussten, dass unsere Substanz krystallisiren konnte, die Ausbeute bei dieser Behandlung aber sehr gering war und sehr lange Zeit in Anspruch nahm, haben wir uns bemüht, ein besseres und schnelleres Krystallisationsverfahren zu suchen. Von einem Theil der früher erwähnten, als Niederschlag aufbewahrten Substanz wurde eine gesättigte, wässrige Lösung gemacht und mit dieser Lösung viele Krystallisationsversuche angestellt. Ihre Farbe war dunkelbraun; das specifische Gewicht 1,1. Fünf ccm. dieser Lösung wurden verdünnt mit 5 ccm. destillirten Wassers und zu den verschiedenen Proben

1, 2, bis 10 Tropfen  $n/4$  Schwefelsäure zugesetzt. Die Proben mit 7, 8, 9 und 10 Tropfen Säure hatten nach 24 Stunden amorphe Niederschläge mit mehr oder weniger schön ausgebildeten Krystallen ausgeschieden. Die anderen Proben waren klar geblieben oder hatten nur amorphe Niederschläge, die auch nach mehreren Wochen keine Andeutung von Krystallisation zeigten, sie konnten aber innerhalb 2 Tage zur Krystallisation gebracht werden durch Versetzen mit der berechneten Tropfenzahl der Säure. Alle diese Flüssigkeiten waren sauer gegen Lackmus, reagierten aber nicht auf Congo. Die Krystallformen wechselten von dicken Linsen zu äusserst zarten Nadeln.

Für die Bereitung grösserer Quantitäten der krystallisirten Substanz wäre es bequemer, mit kleineren Volumina zu arbeiten, darum wurde versucht, für die unverdünnte Lösung die entsprechende Menge Schwefelsäure zu finden. Bei diesen Versuchen wurden nur amorphe Niederschläge erhalten, auch nach mehreren Wochen fanden sich in diesen Proben keine Krystalle. Es gelang aber, innerhalb 2 mal 24 Stunden diese Niederschläge in Krystalle umzusetzen durch Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser und Versetzen mit soviel Schwefelsäure, bis die Proben 7, 8, 9 und 10 Tropfen Säure in 10 ccm. Flüssigkeit enthielten.

Oben wurde schon erwähnt, dass nicht immer dieselben Krystallformen entstanden. Mit wenig Säure (7 und 8 Tropfen) bildeten sich globulitenartige Ausscheidungen, die sich oft nach mehreren Tagen in dickere prismatische Krystalle umwandelten; mit mehr Säure bildeten sich dickere, auch dünnere Linsen, dünne Prismen, endlich äusserst zarte Nadeln, die eine Länge von 0,7 mm. erreichten, also makroskopisch sichtbar waren.

Nun wurden Proben der zu verschiedenen Zeiten gesammelten Substanz auf ihre Krystallisirbarkeit untersucht, und es stellte sich heraus, dass alle krystallisirbar waren, dass aber dabei der Wasserzusatz ebenso grossen Einfluss ausübt, als der Säuregrad.

Die dazu benöthigte Menge Säure war 4—5,6 ccm.  $n/4$  Schwefelsäure auf 100 ccm. Lösung; meistens wurde 5,6 ccm.

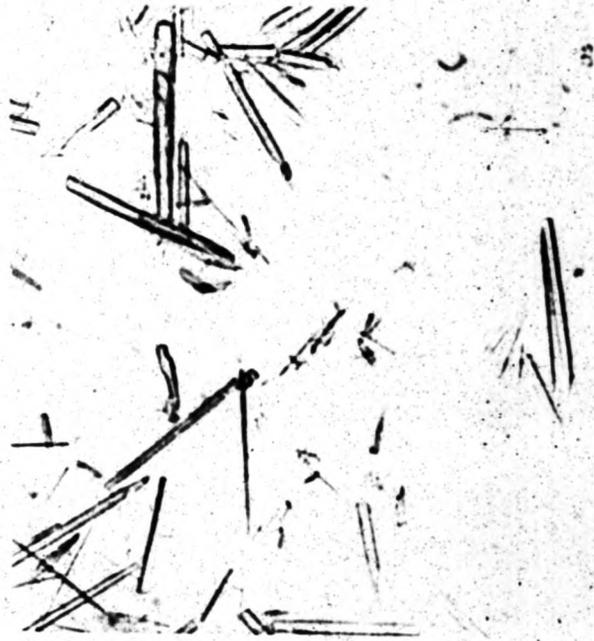
benutzt. Krieger bemerkt in seiner Dissertation<sup>1)</sup>: „Die Krystallisation von Serumalbumin gelingt nur rasch und sicher unter Einhaltung der folgenden Bedingungen: es wird zum globulinfreien Serum soviel  $n/5$  Schwefelsäure zugesetzt, bis eine leichte Trübung (Opalescenz) eintritt. Es stellte sich heraus, dass hierbei immer nahezu die gleiche Menge notwendig war, nämlich auf je 100 ccm. der albuminhaltigen Mutterlauge 6,8—7,5 ccm.  $n/5$  Schwefelsäure. Wurde weniger als diese Menge zugeführt und dann gesättigte Ammonsulfatlösung bis zur Trübung, so misslingt öfter die Krystallisation.“ Die von Krieger für krystallisiertes Serumalbumin gefundenen Zahlen 6,8—7,5  $n/5$ , bzw. 5,4—6 ccm.  $n/4$  Schwefelsäure entsprechen also ziemlich genau der von uns für Bence-Jones'sche Albumose gefundenen Menge, 5,6 ccm.

Ganz anders aber verhält es sich mit dem Ammonsulfatgehalt. Dieser wurde bestimmt nach der von Wildenstein (Fresenius, Quantitative Analyse) angegebenen Methode: Versetzen mit einer Chlorbaryumlösung und Rücktitriren mit Kaliumchromat: die gefundene Menge Schwefelsäure wurde auf Ammonsulfat umgerechnet. Es stellte sich heraus, dass die Flüssigkeiten, bereitet durch Lösen des mit Ammonsulfatlösung erhaltenen Niederschlags in einer möglichst geringen Menge Wasser, ungefähr dieselbe Menge Ammonsulfat enthielten: in 100 ccm. 1,091—1,128 g. Unsere gesättigte neutralisirte Ammonsulfatlösung enthielt in 100 ccm. 54 g Ammonsulfat. Aus diesen Zahlen lässt sich also berechnen, dass die verdünnten, zur Krystallisation benutzten Lösungen 10,10—10,45 Volumprocent gesättigte Ammonsulfatlösung enthalten. Die Albumine krystallisiren bekanntlich durch Verdunsten 40 volumprocentiger Ammonsulfatlösungen.

Jetzt wurde in entgegengesetzter Weise ein Versuch angestellt. Solch eine ammoniumsulfathaltige Albumoselösung wurde durch vierzehntägiges Dialysiren von Ammonsulfat befreit (im Exhalysat war nach  $2 \times 24$  Stunden mit Nessler's Reagens

<sup>1)</sup> Ueber die Darstellung krystallinischer thierischer Eiweissstoffe. Strassburg 1899.

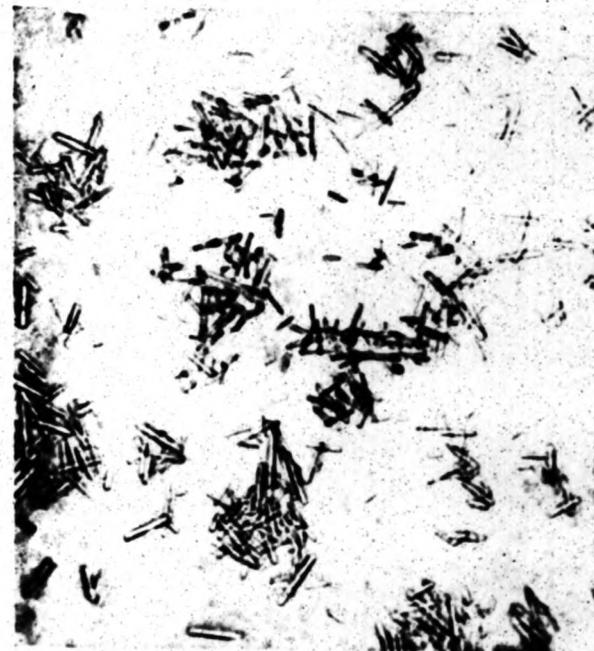
*Figur 1*

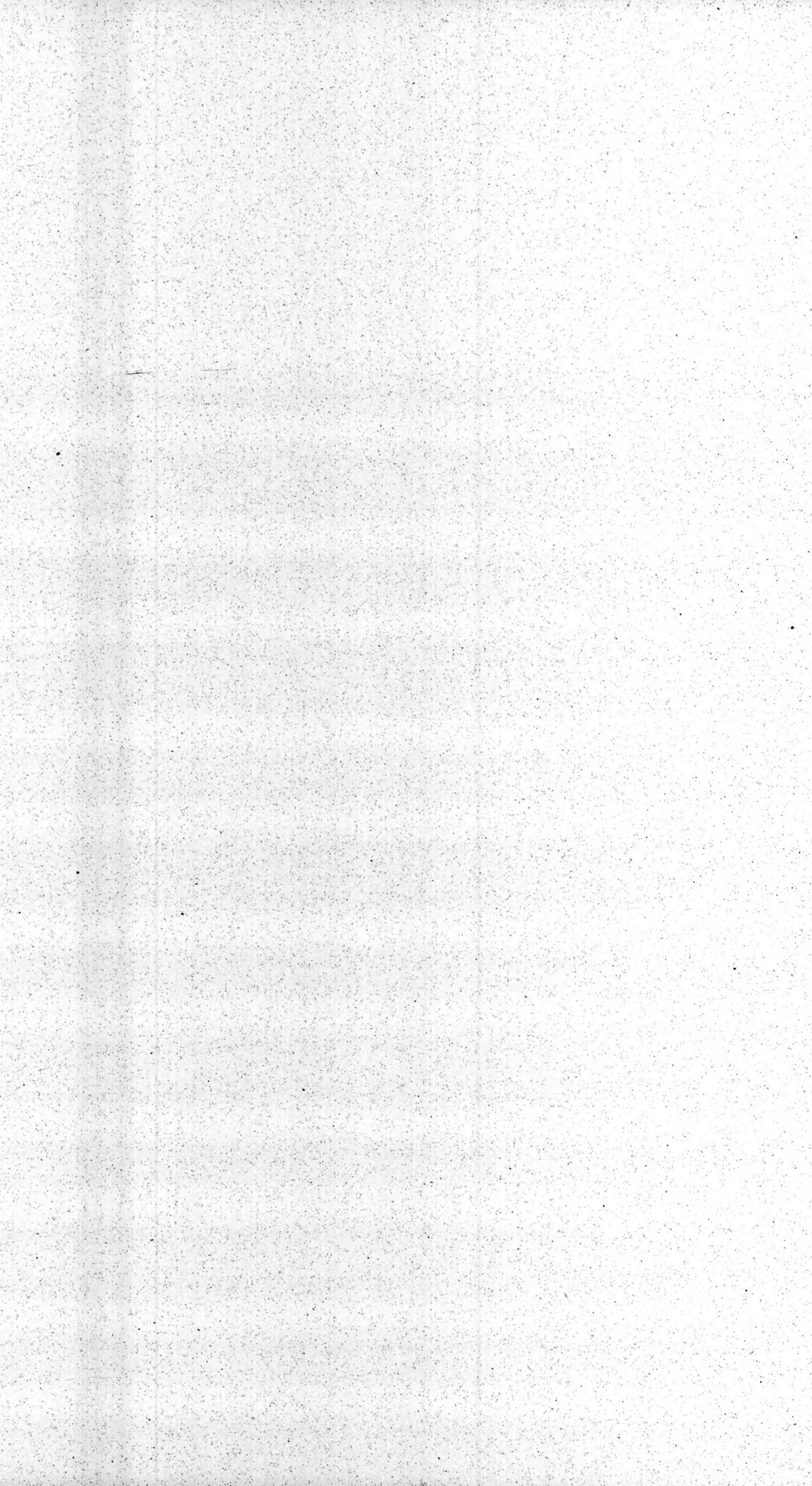


*Figur 2*



*Figur 3*





Ammoniak colorimetrisch nicht mehr nachweisbar. Zu 90 ccm. dieser dialysirten Lösung wurden 10 ccm. gesättigte neutralisirte Ammonsulfatlösung zugesetzt; Proben dieser Flüssigkeit wurden wieder mit steigenden Mengen Säure versetzt: innerhalb 24 Stunden hatten sich schöne weisse Krystalle gebildet (Globuliten, Prismen und Nadeln).

In der oben beschriebenen Weise ist es uns immer gelungen, auch grosse Quantitäten unseres Eiweisskörpers zu krystallisiren; 1250 ccm. der Lösung wurden verdünnt mit 1250 ccm. Wasser und versetzt mit 35 ccm. Normalschwefelsäure. Nach 24 Stunden konnte die braungefärbte Mutterlauge von den sehr wenig gefärbten Krystallen getrennt werden. Die Krystalle wurden gereinigt durch wiederholtes Decantiren mit Wasser; sie waren fast farblos. Die Mutterlauge enthielt nur wenig Eiweiss; sie trübte sich noch sehr schwach nach dem Versetzen mit mehr Ammonsulfat und mehr Säure.

Unsere Albumose krystallisirt also aus Lösungen, die etwa 10 Volumprocent Ammonsulfat enthalten, nur nach Zusatz von Schwefelsäure. Magnus-Levy hingegen krystallisirte seinen Eiweisskörper ohne Säure aus Lösungen, die etwas weniger als 40 Volumprocent Ammonsulfat enthalten. Seine Krystalle hatten die Form schöner Rhomboeder: diese Krystallform haben wir bis jetzt noch nicht beobachtet.

#### **Eigenschaften der Krystalle.**

Oben wurde schon erwähnt, dass wir bei unseren Versuchen sehr verschiedene Krystallformen erhielten. In krystallographischer Hinsicht sind die langen Nadeln von geringerer Bedeutung, als die kleineren, aber viel schöner ausgebildeten Prismen und die dicken Linsen. An den letzteren lässt sich die Doppelbrechung deutlich beobachten ohne Gypsplatte: die Polarisationsfarben wechseln von dunkelgrau bis hellgrau. Sie löschen gerade aus und behalten diese Auslöschung bei der Drehung um ihre Achse auf der Halbkugel.<sup>1)</sup> Ein Achsenbild

<sup>1)</sup> Schreuder van der Kolk. Anleitung zur mikroskopischen Krystallbestimmung.

konnte nicht beobachtet werden: mit der Gypsplatte wurde mit grosser Wahrscheinlichkeit ausgemacht, dass die Krystalle optisch positiv sind.

Die prismatisch ausgebildeten Krystalle sind dem Ansehen nach sechsseitige Prismen mit aufgesetzten Pyramiden; der hemimorphe Habitus ist an vielen Individuen zu beobachten, aber nicht an allen. Es war schwer, die Krystalle aufrecht zu stellen: am besten war es, sie vorsichtig zu verreiben in einem Tropfen verflüssigter Glyceringelatine. Der bequemeren Beobachtung halber wurden sie vorher gefärbt mit Säurefuchsin. Einige erschienen dann als Sechsecke. Der Supplementswinkel wurde so genau, als das möglich war, gemessen und bestimmt auf ungefähr  $60^\circ$ . Die Winkel des Sechsecks sind also  $120^\circ$  und die Krystalle gehören demnach mit grosser Wahrscheinlichkeit dem hexagonalen System an.

Während die Nadeln einige Male makroskopisch sichtbar waren (0,7 mm.), erreichten die prismatischen Krystalle (Fig. 1) nur eine Länge von 0,147 mm. und eine Breite von 0,01 mm., während die der Fig. 2 eine Länge von 0,058 mm. und eine Breite von 0,02 mm. erreichten.

Versuche, diese Substanz durch Umkrystallisiren weiter zu reinigen, schlugen fehl wegen der Schwerlöslichkeit der Krystalle in Wasser. Durch wiederholtes Decantiren mit Wasser war es aber leicht, die amorphen Beimengungen zu entfernen. Fig. 3 zeigt ein so behandeltes Präparat: es ist ganz frei von amorphen Substanzen und es ist einheitlich krystallisirt. Diese Krystalle wurden mit Alkohol und Aether ausgewaschen, und an der Luft getrocknet. Bei längerem Stehen über Schwefelsäure ändert sich ihr Gewicht nicht. Bei  $100^\circ$  getrocknet, verlieren sie 7,5% an Gewicht: Trocknen bei  $110^\circ$  ändert das Gewicht nicht mehr. Der Aschegehalt der über Schwefelsäure getrockneten Substanz war 0,1%. Diese Asche wurde mikrochemisch untersucht. Der grösste Theil löste sich in kochendem Wasser und krystallisirte beim Erkalten des Tropfens am Rande aus in der bekannten Form der Gypsnadeln und Zwillinge. Geringe Spuren Eisen blieben nach dem Auskochen der Asche mit Wasser zurück. Phosphor war nicht nach-

weisbar. Eine andere Probe wurde verbrannt mit  $\text{NaNO}_3$  und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ : auch diese Asche enthielt keinen Phosphor. Unsere Substanz ist also phosphorfrei. Selbst nach sehr oft wiederholtem Auswaschen enthalten die Krystalle noch Spuren Ammonsulfat. Die Schwefelsäure kann man hier am besten nachweisen mit Benzidinchlorhydrat: das schwerlösliche Benzidinsulfat scheidet sich als stark polarisirende Blättchen ab. Bei Beobachtung zwischen gekreuzten Nicols unterscheidet man sie sogleich zwischen den nicht polarisirenden Eiweisskrystallen.

Durch fortgesetztes Auswaschen, wobei der grösste Theil der Krystalle sich allmählich löste, gelang es, einen kleinen Rest vollkommen rein, d. h. schwefelsäure- und ammonfrei zu erhalten. Die farblosen Krystalle lösen sich in Wasser zu einer gegen empfindliches Lackmuspapier sehr schwach sauren Lösung. Anfangs glaubten wir als Erklärung für die Schwerlöslichkeit der Krystalle annehmen zu müssen, dass wir zu thun hatten mit Schwefelsäuresalzen, die Abwesenheit der Säure beweist aber die Unrichtigkeit dieser Annahme.

Die Krystalle lösen sich sehr schwer in kaltem Wasser, etwas besser in 2%igen Harnstofflösungen, weniger gut in Kochsalz; sie lösen sich aber völlig in kochendem Wasser und bleiben beim Abkühlen gelöst. Diese Lösung verhält sich nur in einer Hinsicht anders als die salzfrei dialysirte Lösung. Sie gibt nach dem Erkalten mit geringen Mengen anorganischer Salze, wie Ammonsulfat, Chlorammon, Kochsalz u. s. w., Niederschläge. Die Substanz hat sich also bei der Erhitzung geändert: es war nicht möglich, ihre Fällungsgrenze nach Pick zu bestimmen.

#### Qualitative Reactionen der kaltgesättigten wässerigen Lösung der Krystalle.

- |   |   |
|---|---|
| 1. Alkohol 96°.   | Im Ueberschuss Niederschlag, beim Erhitzen Flocken.                       |
| 2. Salpetersäure in der Kälte.  | Trübung, welche in der Hitze verschwindet, in der Kälte wieder erscheint. |
| 3. Gleiches Volumen concentrirte Kochsalzlösung zu der mit Essigsäure angesäuerten Flüssigkeit. | Starke Trübung, die beim Erhitzen nicht verschwindet.                     |



Abwesenheit von Histon wurde bewiesen durch das Ausbleiben der Trübung beim Zusatz von Ammoniak zu schwach sauren Lösungen.

Wir haben die Reactionen des Eiweisskörpers im Harn tabellarisch zusammengefasst in der Reihenfolge, benutzt von Magnus-Levy, da sie sich so am leichtesten unter einander vergleichen lassen.

- |   |   |
|---|---|
| 1. Erwärmen.  | Opalescenz bei 56°. Ausfällung bei 61—65°, über 75° Bildung von Klumpen, die sich bei 100° fast ganz gelöst haben.  |
| 2. Salpetersäure.   | Ausfällung in der Kälte; in der Siedehitze theilweise löslich. Beim Abkühlen Verstärkung des Niederschlags.   |
| 3. Salzsäure.   | Wie Salpetersäure.  |
| 4. Essigsäure.  | Anfangs kein Niederschlag; nach einiger Zeit war die ganze Masse gelatinös (das Proberohr kann umgekehrt gehalten werden), beim Erwärmen flüssig.                                   |
| 4a. Schwefelsäure.  | Ausfällung in der Kälte.  |
| 4b. Milchsäure.   | „ nach längerem Stehen in der Kälte.  |
| 4c. Phosphorsäure.  | Keine Ausfällung.   |
| 5. Kohlensäure.   | Beim Einleiten in den aufs 10fache verdünnten Harn kein Niederschlag.   |
| 6. Neutralisation mit $\text{NH}_3$ oder NaOH.                      | Keine Fällung.  |
| 7. Neutralisation nach reichlichem Zusatz von NaOH oder Essigsäure. | Reichliches Neutralisationspräcipitat.  |
| 8. Millon'sche Reaction.  | Schöne Rothfärbung der Flocken in der Hitze.  |
| 9. Biuretreaction.  | Rothviolett färbung.  |
| 10. Kalilauge und Bleiacetat.                                       | Beim Kochen starke Braunfärbung.  |
| 11. Alkohol.  | Völlige Ausfällung durch 2 Volumtheile 96%igen Alkohols. Der Niederschlag löst sich völlig bei unmittelbarer Erhitzung nach der Ausfällung, wird aber nach längerer Zeit unlöslich. |

- |   |  |
|---|--|
| 12. Tannin und Essigsäure.                      | Starker Niederschlag, bei 100° unlösl.   |
| 13. Pikrinsäure.                                | „ „ „ 100° „   |
| 14. Essigsäure und Ferrocyankalium.             | Anfangs geringer Niederschlag, beim Stehen stärker werdend. Die Fällung ist aber viel stärker in verdünntem Urin. Der Niederschlag löst sich fast ganz beim Kochen und erscheint wieder beim Erkalten.   |
| 15. Kochsalz.                                   | Zusatz von 2 Theilen gesättigter Kochsalzlösung: keine Trübung. Sättigung mit Steinsalz: keine Trübung, auch nicht im Brutschrank bei 37°.   |
| 16. Essigsäure und concentrirte Kochsalzlösung. | Vollständige Ausfällung.   |
| 17. Ammonsulfat.                                | Vollständige Ausfällung bei Zusatz von 2 Volumina gesättigter Ammonsulfatlösung. Die unteren und oberen Fällungsgrenzen, bestimmt nach der von Pick angegebenen Methode, lagen für unseren Körper im Harn bei 4,4 bzw. 5,6. Für eine durch Dialysiren fast vollständig von Ammonsulfat befreite Eiweißlösung fanden wir 4,4 bzw. 5,8, also annähernd dieselben Zahlen. |
| 18. Dialyse.                                    | Der Körper dialysirt, wenn auch in Spuren durch thierische Membran, viel schneller durch künstliches Pergament (Schleich'sche Dialysirhülsen). Auch bei tagelangem Dialysiren scheidet sich nichts aus.  |
| 19. Sulfosalicylsäure.                          | Starke Fällung, löslich beim Erhitzen, wieder erscheinend beim Erkalten.   |

Ein genauer Vergleich mit den bis jetzt beschriebenen Fällen von Bence-Jones'scher Albumosurie ist nur für die wichtigsten Reactionen möglich.

1. Coagulationstemperatur. In unserem Fall nie Opalescenz unter 56°, meist höher, 57—60°. Ribbink<sup>1)</sup> fand

1) Een geval van Albumosurie. Dissertation Amsterdam. 1892.

57—58°, Kühne 43—50°. Matthes, Ellinger, Magnus-Levy 50—58°, Jochmann und Schumann<sup>1)</sup> 53°.

Magnus-Levy verdünnte 10 ccm. Harn mit 10 ccm. Wasser im langhalsigen Kjeldahl-Kolben und erwärmte langsam im Wasserbad: nun schied sich der gesammte Eiweisskörper als Niederschlag an den Wänden ab und ging beim Erhitzen über freier Flamme auch nicht in Spuren in Lösung. Bei der Wiederholung dieses Versuchs ist es uns nicht gelungen, unsere Eiweisssubstanz unlöslich zu machen, wohl war es möglich, durch vorsichtiges Erwärmen und sehr langsames Abkühlen in einem Wasserbad die Trübung beim Abkühlen zu verhindern.

2. Vollständige Löslichkeit bei 100°. Im Anfang löste sich unser Körper bei schwach saurer Reaction fast ganz beim Kochen; war die Reaction zu schwach sauer, so genügte es, den Harn mit einigen Tropfen verdünnter Säure zu versetzen, um vollständige Lösung zu erzielen. Auch Ribbink, Kühne, Matthes und Ellinger erhielten bei 100° klare Lösungen. Bei Huppert, Rosin-Süssmann und Matthes wurde der Harn nicht völlig klar.

Bei Magnus-Levy blieben nicht unerhebliche Mengen des Körpers in groben, zähen Massen ausgeschieden, Jochmann und Schumann berichten, dass die Flocken sich bei 100° nicht merklich lösten.

Die durch Dialyse fast völlig von Salzen befreite Lösung unseres Körpers trübt sich bei saurer Reaction nicht beim Kochen. Sie that es erst nach Versetzen mit kleinen Mengen Salz. Dasselbe Verhalten fanden Kühne, Ribbink, Matthes, und Ellinger. Magnus-Levy hingegen erzielte ohne solchen Zusatz immer eine Ausfällung beim Erwärmen. In unseren Versuchen blieb nach etwa 8tägigem Dialysiren gegen fließendes Wasser die Trübung beim Erhitzen aus: das Dialysiren wurde so lange fortgesetzt, bis nach 2 × 24stündigem Dialysiren im Exhalysat mit Nessler's Reagens kein Ammoniak mehr nachweisbar war, in den meisten Fällen dauerte das noch

1) Münch. Medicin. Wochenschr. Jahrg. 48. Nr. 34.

eine Woche. Die Schwefelsäurereaction war auch dann noch positiv.

3. Sättigung mit Steinsalz. Weder Ribbink noch wir erhielten im Urin bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 37° eine Fällung mit Steinsalz, hingegen entstanden schon bei gewöhnlicher Temperatur Niederschläge in das Dialysat und in die kalt bereitete Lösung der Krystalle. Versetzen mit 2% Harnstoff verhinderte die Fällung nicht. Magnus-Levy fand gerade das Entgegengesetzte: bei 37° Coagulation im Harn, aber in reiner Lösung keine Fällung.

4. Essigsäure. Bei Magnus-Levy gab der Harn beim Versetzen mit einer genügenden Menge Essigsäure weder bei gewöhnlicher Temperatur noch beim Erwärmen Niederschläge. Ribbink studirte eingehend die Wirkung verschiedener Säuren in steigender Concentration. In seinem Fall erstarrte der Harn gelatinös beim Versetzen mit einer genügenden Menge Essigsäure, am schönsten und schnellsten innerhalb 4 und 5 Minuten, wenn 10 ccm. Harn mit 4 ccm. 50%iger Essigsäure versetzt wurden. Unsere Versuche gaben vollständige Uebereinstimmung mit den Ergebnissen Ribbink's.

5. Albumosatbildung. Diese wurde in allen Fällen beobachtet, ausser von Ribbink: nach Magnus-Levy lag das vielleicht daran, dass Ribbink nicht genug Säure oder Alkali zum Harn zugesetzt hat. Auch unsere Substanz bildet Albumosat, unterscheidet sich also in dieser Hinsicht von den Verdauungsalbumosen. Unser Körper hat also die meiste Aehnlichkeit mit dem von Ribbink, unterscheidet sich aber von diesem durch die Albumosatbildung.

Ueber die Frage, welcher Klasse der Eiweisskörper unsere Substanz angehört, wagen wir noch nicht, uns mit Bestimmtheit auszusprechen. Eine Heteroalbumose ist sie gewiss nicht, denn niemals wurde sie als Niederschlag erhalten bei der Dialyse.<sup>1)</sup> In ihren Eigenschaften stimmt sie am meisten mit der

<sup>1)</sup> Aus Pepton Witte wurde nach Haslam (diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 54) die Heteroalbumose abgetrennt. Krystallisationsversuche, in oben angegebener Weise angestellt, hatten bis jetzt noch keinen Erfolg.

Protalbumose überein, unterscheidet sich aber von dieser in den Fällungsgrenzen gegen Ammonsulfat. Mit dem der Nahrung entstammenden Eiweiss steht sie jedenfalls nicht in direkter Verbindung, denn an den Tagen, wo der Patient eiweissarme Nahrung erhielt, wurde eben so viel, ja einige Male mehr Eiweisssubstanz ausgeschieden, als an den Tagen, wo er eiweissreiche Nahrung bekam.

Hoffentlich werden die Resultate der Verdauungsversuche und der Abbauprodukte nach der von Kossel angegebenen Methode, die wir anstellen und über welche wir später berichten werden, die Beantwortung der oben gestellten Frage gestatten.

### Nachtrag.

Während die obenstehende Abhandlung zum Druck ging, haben wir uns bemüht, Krystalle zu erhalten durch Versetzen der nahezu salzfrei dialysirten Lösung mit anderen Salzen und Säuren.

Die Versuche sind gelungen mit:

1. Ammonsulfat und Salzsäure,
2. Zinksulfat und Schwefelsäure,
3. Magnesiumsulfat und Schwefelsäure,
4. Chlorammon und Salzsäure,
5. Chlornatrium »

Die Krystalle sind dem Anschein nach denen aus schwefelsauren Ammonsulfatlösungen vollkommen gleich.

Mit anderen Combinationen sind wir noch beschäftigt; die Resultate dieser Versuche und die Concentrationen der verschiedenen Lösungen hoffen wir später mitzutheilen.