

Über die Gruppe von stickstoff- und schwefelhaltigen organischen Säuren, welche im normalen Menschenharn enthalten sind.

Von

St. Bondzyński, St. Dombrowski und K. Panek.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften in Krakau.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. August 1905.)

Vor einigen Jahren haben Bondzyński und Gottlieb¹⁾ sowie Bondzyński und Panek²⁾ aus normalem Menschenharn zwei stickstoff- und schwefelhaltige Säuren erhalten, welche sie Oxyproteinsäure und Alloxyproteinsäure nannten. Gewisse Differenzen in der elementaren Zusammensetzung von einzelnen untersuchten Präparaten sowohl des oxyproteinsauren Baryums wie der alloxyproteinsauren Salze gaben Veranlassung zu Vermutungen, daß der normale Menschenharn außer den genannten Säuren noch andere, ihnen verwandte stickstoff- und schwefelhaltige Stoffwechselprodukte enthalten könne.

Das Experiment hatte diesbezüglich folgende Fragen zu beantworten: 1. ob die Alloxyproteinsäure die einzige im Harn enthaltene Säure wäre, welche in Wasser leicht lösliche, in Alkohol unlösliche Erdalkalisalze gibt und welche aus ihren Lösungen sowohl mit basischem Bleiacetat wie mit Quecksilbernitrat auf Quecksilberacetat gefällt wird und 2. ob der Niederschlag, welchen das Quecksilberacetat im Filtrate von der Bleifällung erzeugt, außer dem Quecksilbersalze der Oxyproteinsäure nicht etwa noch andere unbekanntes Quecksilberverbindungen enthalte.

¹⁾ «Über einen bisher unbekanntes Harnbestandteil, die Oxyproteinsäure», Zentralblatt f. d. med. Wiss., J. 1897, Nr. 33.

²⁾ «Über Alloxyproteinsäure, einen normalen Harnbestandteil», Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie, octobre 1902, auch Ber. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 2959 (1902).

I. Antoxyproteinsäure.

Daß das Filtrat von der Bleifällung in der Tat wenigstens zwei verschiedene Körper enthielt, wurde uns bald klar, als wir zur Fällung der Oxyproteinsäure statt des Quecksilbernitrates des Quecksilberacetates — welches bei der Darstellung der Alloxyproteinsäure bereits verwandt wurde — uns bedient hatten. Zu der Fällung mit Quecksilberacetat der Körper der Oxyproteinsäuregruppe wurde der Harn anfangs auf folgende Weise vorbereitet. Nach der Entfernung der Phosphorsäure mit Kalk, der Schwefelsäure mit Barythydrat und dem Ausfällen des Kalk- und des Barytüberschusses mit Kohlensäure wurde der Harn bis zur Konsistenz eines dünnen Sirups in vacuo bei 55° C. eingeeengt, durch abwechselndes Einengen und Erkaltenlassen und dabei erfolgende Kristallisation von einem großen Teil des Natriumchlorids sowie teilweise von Harnstoff befreit und dann mit einem Alkoholäthergemisch (2 : 1) mehreremal ausgezogen: der in Alkoholäther unlösliche Rückstand wurde nun in Wasser gelöst und behufs Entfernung der Alloxyproteinsäure resp. auch etwaiger Körper der Alloxyproteinsäuregruppe mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag diente zur Darstellung der Alloxyproteinsäure. Die Oxyproteinsäure und eventuell ihr verwandte Säuren mußten im Filtrate von dieser Fällung gesucht werden. Sie befanden sich dort teils als Erdalkali- teils als Natriumsalz, neben Chlornatrium und Kreatinin. Zu diesem Filtrat wurde nun nach dem Entfernen von Blei mit Natriumcarbonat, dem Neutralisieren der alkalischen Flüssigkeit mit Essigsäure, dem Einengen und schwachen Ansäuern mit Essigsäure eine 20%ige Lösung von Quecksilberacetat zugesetzt und zwar so lange, bis sie eine Fällung noch erzeugte: es entstand ein sehr reichlicher weißer Niederschlag, es fiel jedoch gleich auf, daß die von demselben abfiltrierte Flüssigkeit beim Neutralisieren mit Soda einen noch ebenso starken oder vielleicht noch reichlicheren weißen Niederschlag lieferte. Es lag nahe, zu vermuten, daß diese zwei Quecksilberniederschläge und zwar jener aus saurer Lösung erhaltene und der beim Überschuß von Quecksilberacetat aus der Lösung durch Neutralisieren mit

Soda ausgefällte Quecksilbersalze von zwei verschiedenen Säuren waren. Dies war nun in der Tat der Fall. Aus dem ersten Niederschlag wurde eine stickstoff- und schwefelhaltige Säure erhalten, welche wir hier gleich zur Erleichterung der Darstellung der Ergebnisse unserer Untersuchung Antoxyproteinsäure (ante) nennen, denn die nach der Ausfällung dieser Säure mit Quecksilberacetat aus dem bei der Neutralisation mit Soda gefällten Niederschlag erhaltene Säure erwies sich als mit Oxyproteinsäure identisch.

Zur Darstellung der Antoxyproteinsäure wurde der bei saurer Reaktion ausgefallene Quecksilberniederschlag auf einer Nutsche abfiltriert, durch wiederholtes Herausnehmen aus dem Trichter und Zerreiben mit Wasser in einem Porzellanmörser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion im Filtrat ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; da es jedoch nicht ausgeschlossen war, daß dieser Quecksilberniederschlag das sonst erst beim Neutralisieren ausfallende Quecksilbersalz mitgerissen haben konnte, so wurde das Filtrat von Quecksilbersulfid nach dem Verjagen von Schwefelwasserstoff mittels Durchtreibens eines Luftstroms noch einmal mit Quecksilberacetat in saurer Lösung versetzt; der entstandene Niederschlag nach dem Auswaschen wiederum mit Schwefelwasserstoff zerlegt, in der endlich erhaltenen schwefelwasserstofffreien Lösung die Säure mittels Baryumhydrat gebunden und nach dem Ausfällen des Barytüberschusses mit Kohlensäure sowie der Konzentration der Flüssigkeit in vacuo bis zur Konsistenz eines Sirups durch Eingießen in konzentrierten Alkohol als Baryumsalz gefällt. Da die erhaltenen Präparate noch Chlor enthielten, so wurden sie durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Umfällen mit Alkohol zur Analyse gereinigt, worauf sie schließlich mit Äther nachgespült und im Vacuumexsikkator getrocknet wurden, oder da diese Reinigung nur mit großen Verlusten ausgeführt werden konnte, in Präparate des Silbersalzes umgewandelt. Zu diesem Zweck wurde das Baryumsalz in der Lösung mittels Natriumsulfat in Natriumsalz übergeführt und zwar bei möglichst vollständiger Umsetzung der angewandten Menge des Baryumsalzes, jedoch unter Vermeiden des geringsten Überschusses von Natriumsulfat;

dann wurde eine zur Ausfällung des Chlors eben genügende Menge Silbernitrat hinzugefügt, die Lösung vom ausgeschiedenen Chlorsilber filtriert, das Filtrat mit einem berechneten Überschuß von Silbernitrat und darauf mit Alkohol im Verhältnis 1:1 versetzt. Das Silbersalz fiel als weißer flockiger Niederschlag, welcher anfangs mit 50%igem, darauf mit einem stärkeren, schließlich aber mit 97%igem Alkohol ausgewaschen, von Alkohol mit Äther befreit und in Vacuumexsikkator getrocknet wurde. Mit diesen Methoden wurde eine Reihe von Präparaten sowohl vom Baryumsalz der Autoxyproteinsäure wie vom Silbersalz erhalten. Alle Präparate wurden von der Analyse stets in dem Vacuumapparat von Hans Meyer bis zum konstanten Gewicht getrocknet und zwar das Baryumsalz bei einer Temperatur von etwa 80° C., das Silbersalz bei 45—50° C. Die Elementaranalysen dieser Präparate ergaben, wie aus der beigefügten Tabelle zu ersehen ist,

Tabelle I.

		Präparate des Baryumsalzes				
		1	2	3	4	5
		%	%	%	%	%
N		15,19	15,26	14,02	15,08	15,99
S		—	0,87	—	—	—
Ba		25,1	25,82	26,93	25,58	24,14

		Präparate des Silbersalzes						
		1	2	3	4	5	6	7
		%	%	%	%	%	%	—
N		—	—	—	14,53	14,27	14,66	14,62
S		0,64	0,68	0,61	0,69	0,69	—	—
Ag		—	40,99	40,27	40,10	39,91	39,32	39,16

so gut unter einander übereinstimmende Werte, daß wir anfangs geneigt waren, zu glauben, daß wir die Salze der Autoxyproteinsäure bereits in reinem Zustande vor uns hätten, bis die Beobachtung, daß die Präparate des Baryumsalzes in konzentrierten Lösungen mit basischem Bleiacetat noch

gefällt werden, uns belehrt hatte, daß dieselben mit alloxyproteinsaurem Baryum noch verunreinigt waren. Als uns dies klar wurde, hatten wir versucht, zur Darstellung eines reinen Baryum- resp. Silbersalzes die Beobachtung zu verwerten, daß aus einem Gemenge des Baryum- resp. Bleisalzes der Antoxyproteinsäure mit den entsprechenden Salzen von Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe beim Zerlegen mit Schwefelsäure oder Oxalsäure zunächst die Antoxyproteinsäure wahrscheinlich als eine schwächere Säure in Freiheit gesetzt wird; die freie Antoxyproteinsäure konnte nun auf Grund ihrer leichten Löslichkeit in Alkohol von den in Alkohol schwer löslichen Salzen der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe getrennt werden.

Es gelang in der Tat, aus einem nach dem Verarbeiten einer neuen Menge Harn nach der früher beschriebenen Methode dargestellten Baryumsalz, durch partielles Zerlegen mit einer zur vollständigen Ausfällung von Baryum ungenügenden Menge verdünnter Schwefelsäure, Eindampfen der Lösung in vacuo bis zur Konsistenz eines Sirups, Ausziehen der freien Säure mit absolutem Alkohol und Binden derselben an Baryt ein Präparat des Baryumsalzes der Antoxyproteinsäure darzustellen, welches eine Fällung mit Bleiessig nicht mehr gab. Dieses Baryumsalz wurde in der bekannten Weise in Silbersalz umgewandelt, dessen Elementaranalyse Zahlen ergab,

Präparat A.

C 27.51 %, H 3.13 %, N 15.28 %, S 0.48 %, Ag 37.57 %

welche nun wirklich von jenen in der Tabelle I aufgeführten ziemlich abwichen.

Ogleich es wahrscheinlich war, daß diese letzten Zahlen die Zusammensetzung des Silbersalzes der Antoxyproteinsäure richtig ausdrücken, so schien uns doch wünschenswert, zur Feststellung der Zusammensetzung der gefundenen Säure die Reindarstellung ihrer Salze noch nach einer anderen Methode vorzunehmen. Als Ausgangsmaterial wurden zunächst die von den Analysen zurückgebliebenen Reste der in der Tabelle I aufgezählten Präparate des Silbersalzes benutzt. Nach der Vereinigung dieser Präparate wurde das Silbersalz mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die in Freiheit gesetzte Säure nach dem

Vertreiben von Schwefelwasserstoff zur vollkommenen Entfernung der verunreinigenden Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe mit frisch gefälltem Bleihydroxyd ausgeschüttelt. Nach dem Ausfällen von Blei aus der Lösung mit Oxalsäure, der Oxalsäure mit Barytwasser und des Barytüberschusses mit Kohlensäure, sowie nach dem Einengen der Lösung in vacuo und Fällen mit Alkohol wurde schließlich ein Baryumsalz und aus diesem auf die beschriebene Weise auch ein Silbersalz erhalten, welche bei der Elementaranalyse folgende Zahlen gaben:

Präparat B.

Baryumsalz: — — N 17,87% — Ba 24,54%.
 Silbersalz: C 27,18%, H 3,09%, N 15,38%, S 0,31%, Ag 36,92%.

Um schließlich die Richtigkeit der letzten Ergebnisse in betreff der Zusammensetzung der Antoxyproteinsäure resp. ihrer Salze uns zu vergewissern, haben wir nach der im Anfang dieses Kapitels beschriebenen Methode noch ein Präparat des Baryumsalzes aus dem Harn dargestellt, die aus demselben in Freiheit gesetzte Säure wiederum durch Ausschütteln mit Bleihydroxyd gereinigt, in Silbersalz umgewandelt und analysiert. Die Analyse dieses Präparates (C) hatte die mit Präparaten A und B erhaltenen Resultate bestätigt.

Präparat C.

N 15,66%, S 0,39%, Ag 36,75%.

Die Übereinstimmung dieser Analysen und die aus denselben berechnete mittlere Zusammensetzung des Silbersalzes der Antoxyproteinsäure sowie der freien Säure ist aus der Zusammenstellung in der Tabelle II ersichtlich.

Tabelle II.

Baryumsalz		Silbersalz					Z. d. freien Säure berechnet aus d. mittl. Z. d. Silber- salzes	
		A	B	C	Mittelzahlen			
	%		%	%	%	%		%
C	—	C	27,51	27,18	—	27,34	C	43,21
H	—	H	3,13	3,09	—	3,11	H	4,91
N	17,87	N	15,28	15,38	15,66	15,44	N	24,40
S	—	S	0,48	0,31	0,39	0,39	S	0,61
Ba	24,59	Ag	37,57	36,92	36,75	37,08	O	26,33

Bei der Betrachtung der Analysenresultate fiel uns jedoch trotz der guten Übereinstimmung aller erhaltenen Prozentzahlen der niedrige Schwefelgehalt unserer Säure auf; es wurde deshalb noch die Frage erörtert, ob der Schwefel wirklich einen wesentlichen Bestandteil der Säure bildet und nicht etwa einer Verunreinigung derselben mit einer schwefelhaltigen Verbindung seinen Ursprung verdankt. In erster Linie wurde an eine bei der Zerlegung des Quecksilbersalzes mit Schwefelwasserstoff etwa vor sich gehende Sulfurierung gedacht. Die Möglichkeit der Sulfurierung wurde nun ausgeschlossen, nachdem es gelang, ein Präparat des Baryumsalzes der Antoxyproteinsäure in einigermaßen reinem Zustand mit einem ähnlichen Schwefelgehalt unter Umgehen der Fällung mit Quecksilberacetat und also auch des Zerlegens mit Schwefelwasserstoff darzustellen, und zwar auf Grund der Fällbarkeit der Antoxyproteinsäure aus konzentrierten Lösungen durch Phosphorwolframsäure. Es wurden zu dieser Darstellung 120 l Harn verwendet, da die Vorversuche gelehrt haben, daß die Fällung mit Phosphorwolframsäure mit großen Verlusten an Material verbunden war. Der Harn wurde einschließlich bis zur Fällung mit Bleiessig und Entfernen vom Blei aus der Lösung mit Natriumcarbonat wie oben behandelt; aus dem Filtrat vom Bleicarbonat mußten jedoch die als Quecksilbersalze fällbaren Säuren unter Umgehen der Fällung mit Quecksilberacetat direkt als Baryumsalze gewonnen werden; dasselbe wurde nun nach dem Neutralisieren mit verdünnter Schwefelsäure in vacuo eingeengt, dann, um die organischen Säuren in Freiheit zu setzen, mit verdünnter Schwefelsäure bis zum Erscheinen einer schwach sauren Reaktion an mit Kongorot gefärbten Papierstreifen angesäuert, von Erdalkalisulfaten filtriert, behufs Entfernen von Essigsäure im Schwarzschen Apparat mit Äther ausgezogen und zur Ausfällung der Alkalimetalle mit $1\frac{1}{2}$ Vol. Alkohol versetzt. Von Alkalisulfaten wurde filtriert, die im alkoholischen Filtrat enthaltenen freien Säuren nach dem Verjagen des Alkohols durch Abdestillieren in vacuo bei $35-40^{\circ}$ C. in der üblichen Weise an Baryt gebunden; die wässerige Lösung der Baryumsalze und zwar wie gewöhnlich in vacuo bis zur Sirupkonsistenz gebracht und

mit einem Überschuß von Alkohol gefällt. Das auf diese Weise nach dem Auswaschen des Niederschlages mit Alkohol und Trocknen im Exsikkator erhaltene Präparat, welches zum größten Teil aus Baryumsalzen von Antoxyproteinsäure und Oxyproteinsäure bestand, diente uns zu der Fällung mit Phosphorwolframsäure. Zu dem Zweck wurde eine konzentrierte Lösung desselben nach dem Ausfällen des Baryums mit verdünnter Schwefelsäure und Filtrieren von Baryumsulfat in einem Kolben mit einer 20%igen Phosphorwolframsäurelösung, welche 10% Schwefelsäure enthielt, unter Vermeidung eines Überschusses des Reagens versetzt: so entstand ein schwerer, flockiger Niederschlag, welcher bald zu einer klebrigen Masse sich umwandelte, welche am Boden des Gefäßes haftete. Die über diesem Bodensatz stehende Flüssigkeit wurde nun abgegossen, derselbe mit geringen Mengen 5%iger Schwefelsäure einigemal unter Ausschütteln und Dekantieren rasch ausgewaschen und dann mit lauwarmer Barytlösung zerlegt. Nach der Ausfällung des Barytüberschusses mit Kohlensäure wurde nun eine Lösung erhalten, welche das Baryumsalz der Antoxyproteinsäure enthielt; da die Lösung noch gefärbt war und Körper der Alloxyproteinsäuregruppe — deren Trennung mit Bleiessig bekanntlich nicht quantitativ verläuft —, insbesondere das Urochrom, welches auch mit Phosphorwolframsäure gefällt wird, noch enthalten konnte, so haben wir aus dem Baryumsalz mit verdünnter Schwefelsäure die Säure in Freiheit gesetzt und dieselbe mit frisch gefälltem Bleihydroxyd ausgeschüttelt, worauf sie, nach der Ausfällung von Blei mit Oxalsäure, in der bekannten Weise wieder in Baryumsalz umgewandelt wurde. Das schließlich erhaltene Baryumsalz (1,5 g), welches nicht nur im Verhalten und in chemischen Reaktionen dem antoxyproteinsauren Baryumgleich, sondern auch eine mit ihm ähnliche Zusammensetzung hatte, erwies sich als schwefelhaltig. Die Elementaranalyse des bei 80° C. in vacuo über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrockneten Präparates ergab nämlich:

N 15,83%, S 0,37%, Ba 20,27%.

Die von uns untersuchten Salze der Antoxyproteinsäure hatten also ihren Schwefelgehalt keinesfalls einer Behandlung

mit Schwefelwasserstoff zu verdanken. Da die Methode ihrer Darstellung und Reinigung sowohl eine Verunreinigung mit Oxyproteinsäure wie mit Körpern der Alloxypoteinsäuregruppe unwahrscheinlich macht, so halten wir die Antoxyproteinsäure für eine schwefelhaltige Säure.

Die antoxyproteinsauren Salze von Kalium und Natrium sind in Wasser sehr leicht löslich; ihre konzentrierten wässerigen Lösungen geben beim Vermischen mit konzentriertem Alkohol Emulsionen, welche Tropfen eines dicken Sirups absetzen. Das Calcium- und Baryumsalz stellen weiße Pulver dar, welche in Wasser ebenfalls sehr leicht löslich sind; in absolutem Alkohol ist das Baryumsalz sehr schwer, das Calciumsalz etwas leichter löslich; das Baryumsalz fällt aus wässriger Lösung beim Alkoholzusatz in leichten Flocken, welche unter Alkohol nach einiger Zeit zu einem schweren, körnigen Pulver sich umwandeln. Die wässerigen Lösungen von Erdalkalisalzen der Antoxyproteinsäure reagieren alkalisch. Aus der Lösung in Wasser durch Alkohol fällbar ist auch das Cadmiumsalz der Antoxyproteinsäure, welches in wässriger Lösung durch Schütteln einer Lösung der freien Säure mit Cadmiumhydroxyd erhalten wird. Das Silbersalz der Antoxyproteinsäure wird beim Vermischen von konzentrierter Lösung eines Alkali- oder Erdalkalisalzes dieser Säure mit einer Lösung von Silbernitrat als weißer, flockiger Niederschlag gefällt, welcher durch Wasserzusatz gelöst wird; in Alkohol ist das Silbersalz noch schwieriger löslich als das Baryumsalz und wird daher aus wässriger Lösung schon bei einem geringen Alkoholzusatz gefällt. Da bei der Darstellung des Silbersalzes wegen seiner doch zu großen Löslichkeit in Wasser die Fällung mit Alkohol sich nicht umgehen läßt, empfiehlt sich, das Silbersalz durch Umsetzung von Silbernitrat mit dem Natriumsalz von Antoxyproteinsäure darzustellen, weil dieses Salz, wie auch das aus der Umsetzung resultierende Natriumnitrat, in verdünntem Alkohol ziemlich leicht löslich ist. Im trockenen Zustand ist das Silbersalz ziemlich lichtbeständig, im zerstreuten Tageslicht wird es erst nach längerem Stehen bräunlich. Die Antoxyproteinsäure sowie ihre Salze werden mit Quecksilbernitrat

und Quecksilberacetat gefällt und zwar mit dem letzten Reagens sogar aus stark mit Essigsäure angesäuerten Lösungen. Bleiessig fällt die reine Antoxyproteinsäure nicht, obgleich aus der Lösung, welche die Körper der Alloxyproteinsäuregruppe enthält, dieselbe in den Bleiniederschlag der letzteren reichlich mitgerissen wird. Aus konzentrierten Lösungen wird die Antoxyproteinsäure mit Phosphorwolframsäure als ein anfangs flockiger, bald aber zu einer klebrigen Masse zusammensinkender Niederschlag gefällt, welcher jedoch sowohl im Überschuß des Fällungsmittels, wie auch in verdünnter Schwefelsäure und in Wasser sich ziemlich leicht löst. Die Antoxyproteinsäure spaltet ihren Schwefel oder wenigstens einen Teil desselben leicht beim Kochen mit Alkalien ab. Sie ist optisch-aktiv und dreht die Ebene der Polarisation ziemlich stark nach rechts. Sie gibt keine von den charakteristischen Farbenreaktionen von Eiweiß, also weder die Biuretreaktion noch die Färbung mit dem Millonschen Reagens. Wohl aber stellt die Antoxyproteinsäure jene Verbindung dar, welche die charakteristische Diazoreaktion, die karminrote Färbung mit der Diazobenzolsulfosäure bei der Ausführung der Probe nach Ehrlich, sowie mit dem Paradiazoacetphenon nach Friedenwald gibt. Diese Reaktion gelang nämlich mit wenigen Milligrammen der Salze (Baryum- oder Natriumsalze) unserer Säure und wurde bei keinem von den vielen von uns dargestellten Präparaten vermißt: so gab dieselbe auch und zwar in der gleichen Intensität jenes Präparat des Baryumsalzes, welches mittels der Fällung mit Phosphorwolframsäure erhalten wurde. Ob die Antoxyproteinsäure derjenige Körper ist, welcher die in verschiedenen Krankheiten beobachtete charakteristische Färbung des Harns mit den Diazo-reagentien gibt, bleibt vorläufig dahingestellt.

II. Oxyproteinsäure.

Wir haben bereits erwähnt, daß nach dem Entfernen der Körper der Alloxyproteinsäuregruppe durch Fällung mit Bleiessig nicht alles, was als Quecksilbersalz fällbar ist, aus dem Filtrat vom Bleiniederschlag aus saurer Lösung mit Queck-

silberacetat gefällt wird, daß im Gegenteil nach dem Entfernen der in saurer Lösung erzeugten Fällung bei genügendem Überschuß von Quecksilberacetat in der Lösung ein fast reichlicherer Niederschlag beim Neutralisieren der Lösung mit Natriumcarbonat entsteht. Die Erfahrungen, welche wir gemacht hatten bei der Darstellung der großen Zahl von Präparaten der antoxyproteinsauren Salze, wobei in einzelnen Portionen zu je 100 l mehrere hundert Liter normalen Menschenharn verarbeitet wurden, haben uns jedoch belehrt, daß die oben beschriebene Methode der Darstellung der Körper der Oxyproteinsäuregruppe zwar zu reinen Präparaten der Antoxyproteinsäure führt, aber eine geringe Ausbeute besonders an dem mit Quecksilberacetat beim Neutralisieren fällbaren Körper liefert: es mußte deshalb zur Gewinnung dieses Körpers die Methode, welcher wir bei der Darstellung der Antoxyproteinsäure uns bedient haben, geändert werden. Da die Ursache der Verluste darin lag, daß das Natriumacetat, welches infolge der Fällung mit Bleiessig in die Lösung gelangen mußte, eine vollständige Ausfällung der in Rede stehenden, mit Quecksilberacetat beim Neutralisieren fällbaren Verbindung hindert, so galt es, das Natriumacetat aus der Lösung zu entfernen. Bei der Änderung der Methode wurde auch eine Vereinfachung derselben erstrebt. Da die Methode auch als die geeignetste zur Darstellung der Körper der Alloxyproteinsäuregruppe sich erwies, so wird sie hier in ihrem ganzen Verlauf beschrieben.

Der eingeschlagene Weg war der folgende. Der Harn wurde direkt in vacuo eingedickt. Zu der Klage vieler Autoren, daß infolge der Tendenz des Harns, beim Erwärmen in vacuo zu schäumen, es ihnen nicht gelang, größere Menge Harn durch Destillation in vacuo zu konzentrieren, sei hier bemerkt, daß der Harn in vacuo sich leicht destillieren läßt, wenn man ihn vorher mit einer geringen Menge Alkohol versetzt, die Destillation unter fortwährendem Zufließen der zu destillierenden Flüssigkeit verlaufen läßt und dabei Sorge trägt, daß der Destillierkolben nicht zu viel Flüssigkeit enthalte. Über tausend Liter Harn wurden von uns im Laufe dieser Arbeit auf diese Weise ohne Schwierigkeit unter Aufsicht eines Laboratoriumdieners zur

Sirupkonsistenz gebracht. Der erhaltene dünne Harnsirup wurde bis zum Auftreten einer schwachen Blaufärbung an mit Kongorot gefärbten Papierstreifen mit verdünnter Schwefelsäure und darauf mit $1\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol versetzt: von ausgeschiedenen Alkalisulfaten wurde filtriert, die alkoholische Lösung mit Wasser verdünnt und mit Barytwasser gefällt, der Barytüberschuß gleich darauf mit Kohlensäure zur Ausfällung gebracht und die Flüssigkeit dann von dem gesamten Barytniederschlag filtriert. Das Filtrat wurde in vacuo bis zur Sirupkonsistenz gebracht und nach dem Entfernen eines großen Teils des Natriumchlorids durch Auskristallisieren in der Kälte mit konzentriertem Alkohol gefällt. Der erhaltene Niederschlag von Baryumsalzen wurde nach dem Trocknen im Exsikkator in Wasser gelöst und die Lösung mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag enthielt die Körper der Alloxyproteinsäuregruppe und wurde zur Darstellung derselben verwendet, das Filtrat diente zur Darstellung der Antoxyproteinsäure, vor allem aber der mit Quecksilberacetat beim Neutralisieren fällbaren Verbindung: zu dem Zweck mußte aus diesem Filtrat aber vorerst nicht nur das Blei, sondern auch die Essigsäure entfernt werden. Das Blei wurde mit Natriumcarbonat ausgefällt, die Essigsäure konnte nur durch Äther entzogen werden: dies geschah genau in der oben beschriebenen Weise, indem das Filtrat von Bleicarbonat mit Essigsäure neutralisiert, eingeengt und nach dem Entfernen der Alkalimetalle nach der bereits bekannten Methode und Verjagen des Alkohols im Schwarzschen Apparate, mit Äther extrahiert wurde. Das mit Äther ausgezogene essigsäurefreie Säuregemisch wurde in Baryumsalze umgewandelt, welche mittels der Fällung mit Alkohol schließlich im trockenen Zustand erhalten wurden. Dieses Präparat von Baryumsalzen, welches frei von Natriumacetat war, diente nun zur Fällung mit Quecksilberacetat: seine wässrige Lösung wurde mit Essigsäure leicht angesäuert und mit einer 20%igen Lösung von Quecksilberacetat versetzt. Es entstand ein viel reichlicherer Niederschlag, als bei der Darstellung der Antoxyproteinsäure nach der im ersten Kapitel beschriebenen Methode. Noch reichlicher war aber die Fällung, welche durch Neutralisieren

des Filtrats erzeugt wurde: es wurden abwechselnd bald die Lösung von Quecksilberacetat, bald eine Sodalösung so lange zugesetzt, bis ein weißer Niederschlag noch ausfiel. Mit dem Erscheinen eines gelben Niederschlags wurde die Fällung unterbrochen. Dieser Niederschlag bestand nun zum größten Teil aus dem Quecksilbersalz einer Säure, welche mit der von einem von uns und Gottlieb unter dem Namen Oxyproteinsäure beschriebenen¹⁾ als identisch sich erwies.

Als ein Vorteil der Methode ist außer der besseren Ausbeute an Oxyproteinsäure noch der Umstand zu betrachten, daß die jetzt erzeugten Quecksilberniederschläge weniger mit Chlor verunreinigt waren, als die früher nach der ersten Methode erhaltenen, was die Darstellung von chlorfreien Präparaten des Baryumsalzes uns erleichtert hatte. Wir müssen jedoch von vornherein bemerken, daß die Methode nur zur Darstellung der Oxyproteinsäure sich eignet: der Versuch, eine neue Serie von Salzen der Antoxyproteinsäure nach dieser Methode zur Analyse zu bereiten, ist gescheitert an der Schwierigkeit, Antoxyproteinsäure von Oxyproteinsäure mittels der Fällung mit Quecksilberacetat zu trennen. Das Natriumacetat, welches bei der Fällung mit Quecksilberacetat die Ausbeute an Oxyproteinsäure stark zu schädigen pflegte, hatte sich eben bei der Reindarstellung der Antoxyproteinsäure günstig erwiesen; bei Abwesenheit von Natriumacetat fiel die Oxyproteinsäure beim Zusatz von Quecksilberacetat schon aus saurer Reaktion reichlich nieder. In der Tat, unter diesen Umständen erwies sich bei fraktionierter Fällung schon die erste Fraktion des Quecksilberniederschlags als mit Oxyproteinsäure verunreinigt.

Es bot dagegen keine Schwierigkeiten, von Antoxyproteinsäure freie Präparate von Salzen der Oxyproteinsäure darzustellen. Schon die letzte Fraktion des bei saurer Reaktion ausgefallenen Quecksilberniederschlags erwies sich — wie dies aus der Elementaranalyse des aus derselben dargestellten Silbersalzes sich ergab — als aus mehr oder weniger reinem Quecksilbersalz der Oxyproteinsäure bestehend. Von den letzten Spuren der Antoxyproteinsäure ließen sich die Salze der Oxy-

¹⁾ l. c.

proteinsäure durch Umfällen mit Quecksilberacetat befreien und zwar indem die ersten Fraktionen jeder Fällung verworfen wurden und der Prozeß so lange wiederholt wurde, bis die Präparate keine Diazoreaktion mehr gaben. Die Diazoreaktion lieferte uns nämlich ein ausgezeichnetes Mittel zum Nachweis einer Verunreinigung eines Salzes der Oxyproteinsäure mit Antoxyproteinsäure. Das schließlich reine Quecksilbersalz wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die dadurch freigewordene Säure nach dem Verjagen von Schwefelwasserstoff zum Entfernen der beim Zerlegen von etwa mitausgefälltem basischen Quecksilberacetat entstandenen Essigsäure mit Äther ausgezogen und dann in Baryum- und Silbersalz, und zwar in ähnlicher Weise, wie dies bei der Darstellung der entsprechenden Salze der Antoxyproteinsäure geschah, umgewandelt. Die Elementaranalyse von mehreren Präparaten dieser Salze, welche in vacuo über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrocknet wurden, — und zwar das Baryumsalz bei 85—90° C., das Silbersalz bei einer 45° C. nicht übersteigenden Temperatur — ergab die folgende prozentische Zusammensetzung derselben:

Tabelle III.

Baryumsalz		Silbersalz						Z. d. freien Säure berechnet aus d. mittl. Z. d. Silber- salzes	
Präp.			A	B	C	D	Mittel- zahlen		
	%		%	%	%	%	%		%
C	25,39	C	—	21,05	—	22,74	21,89	C	39,62
H	3,77	H	—	2,68	—	2,74	2,71	H	5,64
N	11,13	N	10,34	9,59	9,69	10,37	9,99	N	18,08
S	0,78	S	0,65	—	—	0,59	0,62	S	1,12
Ba	30,70	Ag	45,60	44,86	45,77	44,48	45,17	O	35,54

Daß wir ein chemisches Individuum vor uns hatten, welches, wenn überhaupt, dann nur in geringem Grade verunreinigt sein konnte, geht besonders aus den Analysen der Präparate A, B und C hervor, welche aus aufeinander folgenden Fraktionen der Quecksilberfällung erhalten wurden, und daß hier in der Tat die von einem von uns und Gottlieb gefundene Oxy-

proteinsäure vorlag, ergibt sich aus dem Vergleich der vorliegenden analytischen Daten mit denjenigen von Bondzyński und Gottlieb von selbst. Diese Autoren haben folgende Zahlen bei der Analyse ihres oxyproteinsauren Baryums gefunden:

C 27,5%, H 3,9%, N 10,64%, S 1,7%, Ba 29,76%.

Der Vergleich weist nämlich im allgemeinen eine gute Übereinstimmung in der prozentischen elementaren Zusammensetzung und eine erhebliche Differenz nur im Schwefelgehalte auf, welcher von uns jetzt niedriger gefunden wurde, was wir mit dem Ersatz des früher zur Fällung angewandten Quecksilbernitrats mit Quecksilberacetat, wodurch eine etwaige Oxydation mit Salpetersäure vermieden und die Reindarstellung der Oxyproteinsäure erleichtert wurde, erklären: in Übereinstimmung damit befindet sich die Beobachtung, daß das von uns jetzt erhaltene oxyproteinsaure Baryum beim Kochen mit Kalilauge an dem Schwärzen von Bleihydroxyd die Abspaltung von Schwefel beobachten ließ, was die früher erhaltenen Präparate nicht taten.

Auch die Eigenschaften der von uns erhaltenen Säure stimmten mit jenen, mit welchen Bondzyński und Gottlieb die Oxyproteinsäure gekennzeichnet hatten, vollständig überein: die Säure gab weder die Xanthoproteinsäurereaktion noch die Biuretprobe, jedoch eine schwache Chamoisfärbung mit dem Millonschen Reagens. Sie gab auch nicht die Diazoreaktion: unsere diesbezügliche frühere¹⁾ positive Angabe ist nämlich auf Antoxyproteinsäure zu übertragen: als die Antoxyproteinsäure noch nicht gekannt war, wurde begreiflicherweise eine schwefel- und stickstoffhaltige Säure, welche im Filtrate vom Bleiniederschlag durch Quecksilberacetat gefällt wurde, für Oxyproteinsäure gehalten. Das negative Verhalten der Oxyproteinsäure gegenüber der Diazoreaktion Ehrlichs gestattete, diese Säure von der Antoxyproteinsäure, für welche diese Reaktion charakteristisch ist, leicht zu unterscheiden; ebenfalls gab die Oxyproteinsäure keine Fällung mit Phosphorwolframsäure, und zwar auch in konzentrierten Lösungen nicht. Die Alkalisalze der Oxyproteinsäure sind in Wasser zerfließlich: da sie auch in

¹⁾ Bondzyński und Panek, l. c.

Alkohol nicht schwer löslich sind und aus konzentrierten wässrigen Lösungen nur sehr unvollständig und nur in schwer sich absetzenden Tröpfchen von Sirupkonsistenz gefällt werden, so wurde auf ihre Darstellung und Analyse verzichtet.

Calcium- und Baryumsalz der Oxyproteinsäure sind in Wasser ebenfalls zerfließlich, aber schwer löslich in Alkohol, obgleich leichter als die entsprechenden Salze der Antoxyproteinsäure; aus konzentrierten Lösungen werden dieselben jedoch durch Alkohol gefällt, obzwar weniger vollständig als die Erdalkalisalze der Antoxyproteinsäure; das Baryumsalz wird aus seiner wässrigen Lösung durch Alkoholzusatz teils in weißen Flocken, teils in Form einer zähen Masse gefällt, welche beim Aufbewahren unter Alkohol bald hart wird. Das oxyproteinsaure Baryum, welches stets als rein weißes Pulver erhalten wurde, ist so hygroskopisch, daß, wenn es nach der Ausfällung mit Alkohol und Auswaschen mit Äther nicht sofort vom Filter in den Exsikkator gebracht wurde, am Filterrande bald zu Tröpfchen einer zähen Masse sich umwandelte. Von den Salzen der schweren Metalle läßt sich ebenso leicht wie das Baryumsalz das Cadmiumsalz der Oxyproteinsäure, und zwar durch Schütteln der aus Baryumsalz durch vorsichtige Ausfällung des Baryums mit Schwefelsäure in Freiheit gesetzten Säure mit frisch gefälltem Cadmiumhydroxyd darstellen und wird dasselbe auch in zur Analyse geeignetem Zustand aus seiner wässrigen Lösung mit Alkohol ausgefällt: der Mangel an Material gestattete uns aber vorläufig nicht, das Salz in größerer Menge zu bereiten. Außer dem Baryumsalz, welches übrigens bereits von Bondzyński und Gottlieb genau beschrieben und analysiert wurde, haben wir noch das Silbersalz der Oxyproteinsäure in analysenreinem Zustand erhalten: dasselbe ließ sich in derselben Weise wie das betreffende Salz der Antoxyproteinsäure, nämlich durch Umsetzung einer Lösung des oxyproteinsauren Natriums mit einer alkoholischen Lösung von Silbernitrat bereiten. Das oxyproteinsaure Silber ist jedoch viel leichter löslich, sowohl in Wasser wie in Alkohol, als das antoxyproteinsaure — so daß seine Darstellung, falls die Fällung in einer nicht zu stark alkoholischen Lösung vorgenommen

wird, mit großen Verlusten an Material verbunden ist: das oxyproteinsaure Silber ist auch weniger lichtbeständig und auch gegenüber höheren Wärmegraden etwas mehr empfindlich als das antoxyproteinsaure Silber. Die Lösungen der oxyproteinsauren Salze sind optisch inaktiv.

Die Unterschiede zwischen Oxyproteinsäure und Antoxyproteinsäure treten nicht nur in den physikalischen Eigenschaften und im chemischen Verhalten der Salze beider Säuren, sondern auch, und nämlich in höherem Grade, in ihrer Zusammensetzung auf. Die Oxyproteinsäure ist etwas schwefelreicher, dagegen ärmer an Kohlenstoff und Stickstoff als die Antoxyproteinsäure und dementsprechend reicher an Sauerstoff. Trotz der nicht unbedeutenden Unterschiede in der Zusammensetzung scheinen die beiden Säuren einander nahe verwandt zu sein: dafür spricht eine im großen und ganzen bestehende Ähnlichkeit ihrer Salze. Die Oxyproteinsäure ist offenbar eine höher oxydierte Verbindung, eine weitere Oxydationsstufe oder ein weiteres Produkt des Abbaues des Eiweißmoleküls als die Antoxyproteinsäure.

Anm. Wir können das Kapitel über die Oxyproteinsäure nicht abschließen, ohne über die Notiz von Herrn Toepfer uns zu äußern, welche einige Monate nach dem Erscheinen der Abhandlung von Bondzyski und Gottlieb über die Oxyproteinsäure im Zentralblatt f. mediz. Wissenschaft, Jg. 1897, in derselben Zeitschrift (Zentralbl. f. d. med. Wissensch., Jg. 1897, Nr. 41) unter dem Titel: «Zur Kenntnis des unter dem Namen Oxyproteinsäure beschriebenen Harnbestandteils», veröffentlicht wurde. Wir tun dies nur deshalb, weil eine Bemerkung von O. Hammarsten in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie (5. Auflage, S. 530), Herr Toepfer habe vor dem Befund der Oxyproteinsäure auf die Existenz einer ähnlichen Verbindung im Harn hingewiesen, geeignet ist, den Leser über den wirklichen Sachverhalt irre zu führen. Hammarsten hatte offenbar nur den oben erwähnten Aufsatz von Herrn Toepfer gekannt, worin der Herr seine Prioritätsansprüche geltend macht, indem er eine Verbindung beschreibt, welche er als Bestandteil des Menschenharns angeblich bereits früher nachgewiesen hatte, deren Eigenschaften mit denen der Oxyproteinsäure identisch sein sollten; da hier auf eine in der Wiener klinischen Wochenschrift im Jahre 1892 über dieses Thema veröffentlichte Abhandlung verwiesen wird, so bekommt der Leser den Eindruck, Herr Toepfer habe in der Tat damals, wenn nicht Oxyproteinsäure, dann vielleicht einen der Oxyproteinsäure ähnlichen Körper

III. Alloxyproteinsäure.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung der Alloxyproteinsäure dienten die Bleiniederschläge, welche bei der Gewinnung von Antoxyproteinsäure, sowie von Oxyproteinsäure von dem diese Säuren enthaltenden Filtrate getrennt wurden. Da wir beobachtet hatten, daß dieser Niederschlag beim Ausfallen nicht unbedeutende Mengen von jenen in reinen Lösungen mit Bleiessig nicht fällbaren Säuren mitzureißen pflegte, so mußten zunächst diese Säuren aus dem Bleiniederschlage entfernt werden. Wir glaubten anfangs dies leicht erreichen zu können durch mehrmalige Umfällung mit Bleiessig der aus dem Bleiniederschlag in Freiheit gesetzten Säure, die Methode erwies sich jedoch als unbrauchbar, weil die Säuren auf diese Weise sich nicht trennen ließen und weil dabei eine beträchtliche Menge der zu gewinnenden Säure, infolge einer gewissen Löslichkeit des Bleiniederschlags im Wasser, sowie im Überschuß des Fällungsmittels, in Verlust ging. Die Entfernung der Säuren der Oxyproteinsäuregruppe wurde daher auf der fraktionierten Zerlegung des Bleiniederschlags mit Oxalsäure begründet: die Oxalsäure zerlegt nämlich in einem Gemisch der Bleisalze der uns hier interessierenden Säuren zuerst die Bleisalze der Säuren der

in Händen gehabt. Nun dies ist nicht im geringsten der Fall. Wir legen beiseite die Frage, ob der von Herrn Toepfer im Jahre 1897 beschriebene Körper wirklich Oxyproteinsäure war — der Mangel an Elementaranalyse dieses Körpers und das dürftige vom Verfasser gelieferte Beobachtungsmaterial lassen eine solche Entscheidung nicht zu —: wir wollen nur feststellen, daß vor dem Erscheinen der Arbeit von Bondzyński und Gottlieb von Herrn Toepfer kein Wort über einen ähnlichen Befund laut wurde. Hammarsten hatte offenbar Herrn Toepfer auf die Versicherung geglaubt und jene Abhandlung des genannten Autors aus dem Jahre 1892 nicht gelesen. Wir fordern ihn auf, dies nachträglich zu tun; wir hoffen, er wird wie wir mit Erstaunen erfahren, daß diese Arbeit keine Vermutung über die Existenz im Harn einer der Oxyproteinsäure ähnlichen Verbindung enthält. Die Bestimmungen vom Gesamtstickstoff im Harn, sowie Harnstoff, Harnsäure und Ammoniak, wie dieselben von Herrn Toepfer in der genannten Abhandlung mitgeteilt wurden, berechtigen ja nicht einmal zu Vermutungen über die Ausscheidung von unbekanntem Körpern im Harn.

Oxyproteinsäuregruppe. Der Bleiniederschlag wurde daher nach dem Auswaschen — wobei, um mit geringer Menge Wasser eine ergiebige Reinigung zu erzielen, ein Rührwerk benutzt wurde — in zwei nach einander folgenden Operationen anfangs mit einer sehr verdünnten Lösung von Oxalsäure, schließlich mit einem Überschuß dieser Säure und zwar ebenfalls unter stetem Umrühren zerlegt. Die bei diesen Zerlegungsprozessen erhaltenen Filtrate wurden durch Binden der freien Säure mittels Kalkhydrat, Entfernen des Kalküberschusses mit Kohlensäure, Einengen bei gelinder Wärme in vacuo und Fällen mit Alkohol auf Calciumsalz der in Rede stehenden Säure verarbeitet. Während die erste geringere Fraktion eine intensive Diazoreaktion gab und offenbar stark mit Antoxyproteinsäure verunreinigt war oder zuweilen sogar, wie dies aus der Elementaranalyse (Baryum- und Stickstoffbestimmung) sich ergab, aus antoxyproteinsaurem Calcium resp. Baryum bestand, enthielten die zweiten größeren Fraktionen nach einer Umfällung mit Alkohol und Ausziehen mit Alkohol, eventuell in einem Soxhletschen Apparat, nur Calciumsalze von mit Bleiessig fällbaren Verbindungen. Die Präparate waren frei von Chlor, sowie auch von Harnsäure, von Alloxurbasen, von Kreatinin resp. Kreatin und von Hippursäure, waren jedoch noch mit Inosit, Mannit¹⁾, sowie mit Kohlenhydraten von unbekannter Natur, welche näher nicht untersucht wurden, verunreinigt. Durch Zerlegen mit Oxalsäure, Filtrieren von oxalsaurem Calcium, Ausfällen des Oxalsäureüberschusses mit Barythydrat, Entfernen des Barytüberschusses mit Kohlensäure und Fällen des schließlich eingeengten Filtrates mit konzentriertem Alkohol wurde das Calciumsalz in Baryumsalz umgewandelt.

Auf diese Weise wurden aus verschiedenen Bleiniederschlägen drei Präparate des Baryumsalzes erhalten. Es waren nämlich die folgenden Fragen, von welchen wir bei der Darstellung dieser Präparate geleitet wurden. 1. Wir wollten zunächst erfahren, wie sich der Schwefelgehalt verhalten wird in solchen Präparaten von Baryum- resp. Silbersalzen, bei deren

¹⁾ S. St. Dombrowski, Arch. polon. d. sciences biol. 1903.

Darstellung Schwefelwasserstoff nicht angewandt wurde; sowie ferner 2. — da Bondzyński und Panek in ihrer betreffenden Abhandlung die Annahme offen ließen, daß die von ihnen erhaltene Alloxyproteinsäure mit irgend einem dieser Säure nahe verwandtem Körper verunreinigt sein könnte — auch versucht, durch fraktionierte Fällung Auskunft über die einheitliche Natur der mit Bleiessig fällbaren Säure zu erlangen. Als Fällungsmittel wurde einerseits Alkohol, andererseits Quecksilberacetat gebraucht.

Von den drei dargestellten Präparaten vom Baryumsalze wurden nun zwei der fraktionierten Fällung mit Alkohol unterworfen: aus jedem von diesen Präparaten, welche wir mit A und B bezeichnen, wurden 2 Fraktionen erhalten, welche nun nach der bei Antoxyproteinsäure beschriebenen Methode über Natriumsalz in Präparate des Silbersalzes umgewandelt wurden, so daß schließlich 4 Fraktionen von Silbersalz dargestellt wurden, welche wir mit A₁ und A₂, B₁ und B₂ bezeichnen, von denen jedoch nur 3 in zur Analyse genügender Menge zur Verfügung standen.

Tabelle IV.

Präp.	Silbersalz			Baryumsalz	
	A ₁	A ₂	B ₂		A ₂
	%	%	%		%
N	5,97	7,12	7,64	N	7,14
S	1,62	1,74	1,60	S	1,81
Ag	44,67	45,07	43,32	Ba	31,47

Die Elementaranalysen dieser Präparate ergaben zwar mit Bestimmtheit, daß die unter vollkommenem Ausschluß von Schwefelwasserstoff bereiteten Salze doch schwefelhaltig sind, ließen jedoch kein entscheidendes Urteil über die einheitliche Zusammensetzung des Silbersalzes fällen, obgleich sie jedoch eher für diese Annahme als gegen dieselbe sprachen. So näherte sich z. B. die Mehrzahl der bei den Analysen erhaltenen Prozentzahlen ziemlich denjenigen, welche von Bondzyński und Panek

bei ihren Analysen erhalten worden waren: die Schwefelbestimmungen ergaben zwar geringeren Prozentgehalt gegenüber jenen von den genannten Autoren für den Schwefelgehalt gefundenen Werten, jedoch stimmten wiederum eben diese Prozentzahlen unter einander sehr gut überein. Diese gewissermaßen günstigen Ergebnisse, welche bezüglich der Frage der Einheitlichkeit des erhaltenen Salzes bei der Fällung mit Alkohol erhalten wurden, hatten sich jedoch als trügerisch erwiesen.

Die fraktionierte Fällung mit Quecksilberacetat ergab gerade das Gegenteil davon. Zu dieser Fällung diente das dritte Präparat (C) des aus dem Bleiniederschlag erhaltenen Baryumsalzes. Dieses Präparat, welches ebenso wie die anderen in trockenem Zustand etwas bräunlich gefärbt war, wurde in Wasser gelöst. Seine konzentrierte Lösung war braun. Sie wurde in 4 Quecksilberfraktionen zergliedert, von denen die erste schmutzig braun gefärbt, die letzte von schneeweißer Farbe war. Diese Quecksilberfraktionen boten nun eine Skala sowohl von Farbenübergängen wie von allmählichem Wechsel in der Zusammensetzung.

Tabelle V. Präparat C.

Fraktionen	1	2	3	4
	%	%	%	%
N	6,52	5,50	5,05	5,11
S	1,73	1,17	0,78	0,54
Hg	44,60	49,95	53,55; 53,71	59,32

Die Elementaranalysen ergaben nämlich ein allmähliches Steigen der Quecksilbergehalte von der 1. bis zur 4. Fraktion, welchem ein allmähliches Sinken des Stickstoffgehaltes und, was besonders auffiel, des Schwefelgehaltes parallel ging. Da die am stärksten gefärbte Fraktion zugleich die stickstoff- und schwefelreichste war, so hatten wir an die Möglichkeit gedacht, daß unsere Säure mit einem sehr schwefelreichen, braunen Farbstoff verunreinigt sein könnte und daß durch Entfärben mit Tierkohle man vielleicht zu farblosen Verbindungen von ein-

heitlicher Zusammensetzung gelangen könnte. Es wurden deshalb 160 l Harn in der oben beschriebenen Weise auf Baryumsalze der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe verarbeitet; es wurden 35 g dieser Baryumsalze erhalten. Es gelang wirklich, die stark braun gefärbte Lösung dieses Präparates mit Tierkohle zu entfärben. Nach dem Einengen des entfärbten Filtrates und Fällen mit konzentriertem Alkohol wurde das Baryumsalz als vollkommen weißes Pulver zurückgewonnen, jedoch nur zum geringen Teil (3 g), indem der bei weitem größere Teil von der Tierkohle aus der Lösung offenbar adsorbiert wurde. Ein Teil von diesem Baryumsalz wurde nach dem Auflösen in Wasser durch Fällung mit Quecksilberacetat in Quecksilbersalz, ein anderer in Silbersalz umgewandelt. So wurden nun auf diese Weise in der Tat farblose Präparate dieser Salze erhalten, deren Analyse auch erwiesen hatte, daß sie schwefelärmer waren als die gefärbten.

Quecksilbersalz
S — 0,84%

Silbersalz
S — 1,13%

Der Bleiniederschlag enthielt also nicht bloß eine einzige Säure, welche mit Quecksilberacetat fällbar war, es waren darin mindestens zwei verwandte Verbindungen von verschiedener Zusammensetzung enthalten; durch fraktionierte Fällung mit Alkohol ließen dieselben sich von einander nicht trennen, ihre Trennung mußte daher auf dem Wege der fraktionierten Fällung mit Quecksilberacetat versucht werden.

Da bei der Umwandlung der Quecksilberverbindungen in Baryum- und Silbersalze das Zerlegen mit Schwefelwasserstoff nicht umgangen werden konnte, so mußte der Wichtigkeit der Frage des Schwefelgehaltes unserer Verbindungen halber zunächst aufgeklärt werden, ob bei der Zerlegung der Quecksilbersalze mit Schwefelwasserstoff dieses Gas nun wirklich unseren Säuren gegenüber ganz indifferent sich verhält. Daß der Schwefel ein Bestandteil der Alloxyproteinsäure ist, wurde schon früher¹⁾ festgestellt und ist neulich von uns bestätigt worden: es war aber noch zu erfahren, ob die Behandlung mit Schwefel-

¹⁾ Bondzyński und Panek, l. c.

wasserstoff doch nicht etwa den Schwefelgehalt unserer Säuren erhöhe. Da das Verhalten der stärkst gefärbten Quecksilberfällungen bei dem Zerlegen mit Schwefelwasserstoff zu solchen Zweifeln besonders Anlaß gab, so haben wir unsere Versuche an der am stärksten gefärbten (1.) Fraktion der Quecksilberfällung ausgeführt: ein Teil dieser Fraktion wurde nämlich nach dem Aufschwemmen in Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt; das Filtrat vom Quecksilbersulfid wurde in zwei Hälften geteilt, welche nach dem Vertreiben von Schwefelwasserstoff und zwar in einem Fall mittels Durchsaugen von Luft, im andern durch Erwärmen in vacuo im Kohlensäurestrom, sowie nach dem Neutralisieren mit Natronlauge mit Quecksilberacetat gefällt wurden; die erhaltenen Quecksilberfällungen:

1 α	1 β
S — 1,49 %	1,52 %

wiesen nun einen gleichen Schwefelgehalt auf, welcher nicht nur nicht höher, sondern geringer gefunden wurde, als der Schwefelgehalt des Ausgangsmaterials (1,74 % S). Wie man nun diese geringe Abnahme des Schwefelgehaltes sich erklären mag — wir sind geneigt, dieselbe einem Mitreißen der schwefelreicheren, farbigen Verbindung durch den Niederschlag von Quecksilbersulfid zuzuschreiben —, eine Anreicherung des Schwefelgehaltes dieser Säuren infolge der Zerlegung ihrer Quecksilbersalze mit Schwefelwasserstoff war nicht zu befürchten, Quecksilberacetat konnte getrost zur Trennung der Säuren angewandt werden.

Es wurden 32 g eines aus dem Bleiniederschlag nach der oben beschriebenen Methode dargestellten Präparates des Baryumsalzes zu einer fraktionierten Fällung mit Quecksilberacetat angewandt: die braungefärbte Lösung des Baryumsalzes wurde nämlich nach dem Ausfällen von Baryum mit Natriumcarbonat und schwachem Ansäuern mit Essigsäure in 3 Fraktionen zergliedert. Da wir uns die Aufgabe gestellt hatten, insbesondere die Zusammensetzung von ganz farblosen Fraktionen zu erforschen, so wurde zur Darstellung der ersten Fraktion so lange mit Quecksilberacetat gefällt, bis nach dem Absetzen des Quecksilberniederschlags die darüber stehende Flüssigkeit ganz

wasserklar wurde. Aus diesem farblosen Filtrat von der ersten Fraktion wurden nun noch zwei Fraktionen erhalten und zwar eine Fraktion Nr. 2 durch vollständiges Ausfällen mit einem Überschuß von Quecksilberacetat aus saurer Lösung und eine dritte Fraktion (Nr. 3) durch Neutralisieren des Filtrates von der zweiten Fraktion mit einer Lösung von Natriumcarbonat. Diese Fraktionen von Quecksilbersalzen wurden in Baryumsalze und diese wiederum über Natriumsalze in Silbersalze übergeführt: es wurden in dieser Weise 3 Präparate des Silbersalzes sowie außerdem aus der Quecksilberfraktion Nr. 2 auch ein Baryumsalz bereitet. Die Elementaranalysen dieser Salze, deren Resultate wir in der folgenden Zusammenstellung wiedergeben,

Tabelle VI.

Fraktionen	Silbersalz			Baryumsalz	
	1	2	3		2
	%	%	%		%
C	24,76	22,23; 22,16	22,17	C	—
H	2,73	2,68; 2,68	2,66	H	—
N	8,07	6,13; 6,02	5,48; 5,56	N	7,13
S	2,67	1,03	1,03	S	1,34
Ag	42,52	47,28	47,21	Ba	35,23

ergaben nun in der Tat Unterschiede in der Zusammensetzung zwischen dem Silbersalze, welches aus der bräunlich gefärbten (1.) Quecksilberfraktion bereitet wurde und den Silbersalzen aus den farblosen Quecksilberfraktionen (2, 3), und zwar trat hier wiederum mit einer großen Deutlichkeit die bereits beobachtete Erscheinung auf, daß die farbigen Präparate stickstoff- und schwefelreicher waren als die farblosen, sowie ferner auch, daß die farblosen Präparate, welche die zwei letzten Fraktionen bildeten, unter einander eine große Ähnlichkeit in der Zusammensetzung aufwiesen. Die Vermutung, daß in dem Silbersalze, welches aus den letzten farblosen Fraktionen gewonnen wurde, ein in der Hauptmasse einheitlicher Körper vorlag, gewann noch an Wahrscheinlichkeit, als bei der Analyse eines anderen Präpa-

rates des Silbersalzes, welches ebenfalls aus der schneeweißen Fraktion der Quecksilberfällung bereitet worden war und zwar einer solchen, welche beim Fraktionieren mit Quecksilberacetat zu allerletzt, d. h. erst beim Neutralisieren mit Soda ausfiel, ein ähnliches Resultat erhalten wurde:

Fraktion 4.

C 21,55 %, H 2,53 %, N 4,96 %, S 0,66 %, Ag 48,35 %.

Wir werden im folgenden berichten, daß dieses Silbersalz nach einer weiteren Reinigung eine dem alloxyproteinsauren Silber ähnliche Zusammensetzung hatte; wir werden deshalb für die in den letzten weißen Quecksilberfraktionen ausfallende Säure den Namen «Alloxyproteinsäure» behalten.

Das so dargestellte alloxyproteinsaure Silber war, trotz seiner weißen Farbe und trotz der gewissen Übereinstimmung der Zusammensetzung von einzelnen Präparaten, doch noch nicht rein. Als wir nämlich die nach dem Neutralisieren ausgefällte Fraktion des Quecksilbersalzes mit Schwefelwasserstoff zerlegt hatten und die in Freiheit gesetzte Säure behufs Entfernung der etwa noch verunreinigenden Essigsäure mit Äther auszogen, überging in den Ätherextrakt eine schwefelfreie, jedoch stickstoffhaltige Säure, oder eigentlich im Plural Säuren — denn aus einer vorläufigen Untersuchung läßt sich schließen, daß dieser Ätherextrakt mehrere Verbindungen enthält. —, deren wässrige Lösung nicht nur in Alkohol unlösliches Baryumsalz sowie auch Niederschläge mit Bleiessig und Quecksilberacetat gab, sondern dem Silbernitrat gegenüber ähnlich wie Alloxyproteinsäure sich verhielt. Diese ätherlösliche Säure verunreinigte alle von uns dargestellten Präparate des Silbersalzes der Alloxyproteinsäure, sowohl die aus den ersten braun gefärbten Quecksilberfraktionen wie die farbstofffreien sowie auch die früher von Bondzyński und Panek erhaltenen — diese letzteren jedoch in geringerem Grade, wahrscheinlich weil zu ihrer Darstellung die Baryumsalze behufs Trennung von Farbstoff mehreremal mit Alkohol umgefällt wurden. Dieser Ätherextrakt war offenbar stickstoffärmer als die in Äther unlöslichen Säuren; da er auch schwefelfrei war, so ist begreiflich, daß das Ausziehen mit Äther zu stickstoff- und

schwefelreicheren Präparaten geführt hatte. In der Tat, es trat dies deutlich zutage, als wir die in der Tabelle mit Nr. 1 bezeichnete Fraktion des Silbersalzes, welche in größerer Menge uns vorlag, mit Äther ausgezogen hatten; das nach dem Neutralisieren der Säure mit verdünnter Natronlauge und Umsetzung des gebildeten Natriumsalzes mit Silbernitrat erhaltene Silber-salz der in Äther unlöslichen Säure ergab nun:

Silbersalz.

Fraktion 1a	Fraktion 1
nach dem Ausziehen der Säure mit Äther	vor dem Ausziehen der Säure mit Äther
N 8.78%	8.07%
S 3.38%	2.67%

Die mit Bleiessig fällbaren stickstoff- und schwefelhaltigen Säuren mußten daher, bevor irgend ein Versuch zu ihrer Trennung und Reindarstellung zu unternehmen sich empfahl, vorerst mit Äther ausgezogen werden. Der Extraktion mit Äther haben wir anfangs die aus dem Gemenge von Baryumsalzen der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe durch vorsichtigen Zusatz von Schwefelsäure in Freiheit gesetzte Säure unterworfen. Es erwies sich jedoch später als opportun, die Extraktion mit Äther vor die Fällung mit Bleiessig in die Methode der Darstellung der Körper der Oxyproteinsäure- und Alloxyproteinsäuregruppe einzuschalten und zwar in dem Augenblick, als behufs Umwandlung der etwa im Harn vorhandenen Alkalisalze dieser Säuren in die Erdalkalisalze der dünne Harnsirup, wie das schon im Kapitel II über die Oxyproteinsäure beschrieben worden war, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt wurde. Die Ätherextraktion wurde nämlich mit der von den Alkalisulfaten filtrierten Lösung ausgeführt, nachdem der Alkohol aus derselben durch Verdunsten bei 35° C. in vacuo verjagt wurde. Die Extraktion geschah im Schwartzschen Apparate und dauerte, je nach der Menge der zu extrahierenden Flüssigkeit, 1—2 Wochen.

Der Niederschlag, welcher in diesem Fall bei dem Verarbeiten des Harns durch Bleiessig erzeugt wurde, enthielt nur die Bleisalze der schwefelhaltigen Säuren und war frei von

Bleisalzen der verunreinigenden ätherlöslichen Säuren. Zur Reindarstellung der Alloxyproteinsäure wurde nun mit dem Bleiniederschlag genau in der oben beschriebenen Weise verfahren, indem die Bleisalze der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe in Calcium- resp. Baryumsalze umgewandelt wurden und die Alloxyproteinsäure aus denselben durch fraktionierte Fällung mit Quecksilberacetat gewonnen wurde. Es dienten nämlich zu ihrer Darstellung auch in diesem Fall nur die vollkommen weißen Fraktionen des Quecksilberniederschlags, welche nach dem Entfernen der ersten reichlichen dunkel gefärbten Fraktion beim weiteren Zusatz von Quecksilberacetat aus dem farblosen Filtrate und zwar bald noch bei saurer Reaktion der Lösung, bald unter Neutralisieren ausfielen. Aus einer größeren Zahl von solchen Quecksilberfällungen, welche in mehreren Versuchen erhalten worden waren, wurde nun ein Präparat des Baryumsalzes, sowie mehrere Präparate des Silbersalzes dargestellt, welche auch der Analyse unterworfen wurden.

Tabelle VII.

Baryumsalz		Silbersalz						Z. d. freien Säure berechnet aus d. mittl. Z. d. Silber- salzes	
		1	2	3	4	Mittel- zahlen			
	%		%	%	%	%	%		%
C	23,59	C	23,14; 23,52	—	—	—	23,33	C	41,33
H	3,31	H	2,83; 2,81	—	—	—	2,82	H	5,70
N	7,89	N	7,52	7,80	7,64	—	7,65	N	13,55
S	1,33	S	1,13	1,36	—	—	1,24	S	2,19
Ba	35,38	Ag	43,76	44,52	43,32	44,25	43,96	O	37,23

Durch die erhaltenen analytischen Daten wird nur der von Bondzyński und Panek gefundene hohe Schwefelgehalt der Alloxyproteinsäuren, welcher übrigens mit allem Vorbehalt angegeben wurde und auch die Veranlassung zur Wiederaufnahme der Untersuchung der Alloxyproteinsäure gab, richtig gestellt; derselbe wurde von uns jetzt niedriger ge-

funden.¹⁾ Die Übereinstimmung der erhaltenen Zahlen, welche beiläufig bemerkt, von den früher für die Salze der Alloxyproteinsäure von Bondzyński und Panek ermittelten, die für den Schwefelgehalt ausgenommen, nur wenig differieren, spricht deutlich für die Einheitlichkeit unserer Säure.

Auch die Eigenschaften der auf die beschriebene Weise rein dargestellten Salze der Alloxyproteinsäure wiesen eine Übereinstimmung auf mit den Angaben von Bondzyński und Panek über ihre alloxyproteinsauren Salze. Wir haben daher zu der Beschreibung dieser Salze, welche von den genannten Autoren geliefert wurde, nur noch hinzuzufügen, daß die alloxyproteinsauren Salze nicht nur von oxyproteinsauren, sondern auch von antoxyproteinsauren Salzen durch ihre geringere Löslichkeit in Alkohol sich unterscheiden, ferner, daß die Lösung des Baryumsalzes optisch inaktiv ist und daß sie mit Eisenchlorid nicht gefällt wird. Die freie Alloxyproteinsäure ist sowohl in Wasser, wie in konzentriertem Alkohol leicht löslich und wird aus der Lösung in Alkohol auch mit Äther nicht gefällt.

IV. Eine stickstoff- und schwefelhaltige Säure von den Eigenschaften des Harnfarbstoffs (Urochrom).

Mit der Darstellung der Alloxyproteinsäure resp. ihrer Salze wurde jedoch die Zusammensetzung bloß eines Teils des aus dem Harn erhaltenen Bleiniederschlags aufgeklärt und zwar nur der schwefelärmeren Säure, welche bei der Fällung mit Quecksilberacetat die letzten weißen Quecksilberfraktionen bildete. Es galt nun, den schwefelreicheren Körper zu erforschen, welcher in den ersten braungefärbten Fraktionen des Quecksilberniederschlags ausfiel. Da der Schwefelgehalt sowohl des Quecksilber- wie des Silbersalzes mit der Intensität ihrer

¹⁾ Die früher gefundenen sicher zu hohen Zahlen für den Schwefelgehalt können wir uns anders nicht erklären, als mit oxydativen Prozessen, welche beim Eindampfen von Lösungen von alloxyproteinsauren Salzen in offenen Schalen bei Luftzutritt sich etwa abspielen könnten, denn seitdem wir das Einengen solcher Lösungen nur in vacuo ausführen, haben wir so hohe Zahlen nicht wieder erhalten.

Färbung parallel zu gehen schien, so haben wir uns die Frage gestellt, ob der schwefelreiche Körper nicht etwa der Farbstoff selbst sei und nicht etwa mit dem von Thudichum¹⁾ entdeckten und besonders von Garrod²⁾ näher untersuchten Urochrom identisch wäre. Allerdings fanden wir in den Arbeiten dieser Autoren keine Erwähnung, daß ihr Urochrom schwefelhaltig wäre. Trotzdem haben wir, von diesem Gedanken geleitet, untersucht, ob unser Farbstoff mit Kupferacetat gefällt wird. Dies war nun tatsächlich der Fall. Alle Lösungen, welche den Farbstoff enthielten, also sowohl Lösungen von Baryum- und Calciumsalzen, welche das Gemenge von Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe enthielten, wie auch Lösungen der sowohl aus den farbigen Fraktionen der Quecksilberfällung, sowie aus braun gefärbten Präparaten der Silbersalze in Freiheit gesetzten Säuren gaben mehr oder weniger reichliche grau-grüne oder bräunlichgrüne, flockige Niederschläge mit Kupferacetat. Diese Fällungen waren frei von Alloxurbasen und von Harnsäure. Daß hier der Farbstoff gefällt wurde, ließ sich daraus schließen, daß durch die Fällung mit Kupferacetat die Lösungen entfärbt wurden und daß die farblosen Lösungen von Salzen der Alloxyproteinsäure solche Fällungen nicht gaben. Als Ausgangsmaterial zur Darstellung dieser Kupferverbindung diente das erwähnte Gemenge von Calciumsalzen der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe. Die Lösung dieses Präparates, welche vollkommen frei von Chlor war, wurde vor dem Fällern mit Kupferacetat mit Essigsäure neutralisiert. Beim Zusatz von Kupferacetat entstand ein reichlicher Niederschlag, welcher nach einiger Zeit beim Stehenlassen noch größer wurde. Eine geringe Menge dieses Kupferniederschlages wurde zur Elementaranalyse verwendet, nachdem derselbe mit Alkohol und darauf mit Äther gespült und anfangs bei Zimmertemperatur im Vacuum-exsikkator, später im Vacuumapparat bei 60° C. über Schwefel-

¹⁾ Brit. med. Journ. 1864, Bd. II, S. 509, cit. nach Huppert in der Anleitung zur Analyse des Harns von Neubauer und Vogel, 3. Auflage, S. 508.

²⁾ Proc. roy. soc., Bd. LV, S. 394—407. Refer. J. Th., Bd. XXIV, S. 292 (1894).

säure bis zum konstanten Gewicht getrocknet wurde. Die Kupferverbindung erwies sich als stickstoff- und schwefelhaltig. Ihre Elementaranalyse ergab Zahlen,

C 36.76 %, H 3.56 %, N 9.72 %, S 2.57 %, Cu 20.10 %.

aus denen ersichtlich ist, daß die freie Verbindung viel schwefelreicher ist als die Alloxyproteinsäure.

Der Kupferniederschlag ließ sich mit Schwefelwasserstoff in der Wärme (45°) zerlegen und gab dann braunrot gefärbte Lösungen, welche den freien Farbstoff enthielten. Die farbige Substanz war schwefelhaltig und zwar enthielt sie wie Alloxyproteinsäure sowie wie die Säuren der Oxyproteinsäuregruppe wenigstens einen Teil ihres Schwefels in lockerer Bindung, so daß derselbe mit Salzsäure beim Erwärmen und mit Kalilauge sogar in der Kälte als Schwefelwasserstoff sich abspalten ließ. Sie erwies sich als eine Säure, welche der Alloxyproteinsäure ähnlich, obgleich mit ihr sicher nicht identisch war: sie gab wie Alloxyproteinsäure ein in Wasser leicht lösliches, in Alkohol unlösliches Baryumsalz und ein dem alloxyproteinsauren Silber ähnlich sich verhaltendes Silbersalz wie auch Fällungen mit Lösungen von Quecksilberacetat und mit Bleiessig. Sie ließ sich jedoch von Alloxyproteinsäure unterscheiden nicht nur durch das Verhalten dem Kupferacetat gegenüber, sondern auch durch die Fällbarkeit mit Phosphorwolframsäure. Da dieses Verhalten fast in allen aufgezählten Einzelheiten, den Schwefelgehalt ausgenommen, mit den von Thudichum sowie von Garrod beschriebenen Eigenschaften des Urochroms übereinstimmt, so liegt es nahe, an die Identität unserer Säure mit dem Urochrom zu denken. Für diese Annahme spricht ferner auch die Fällbarkeit der Säure mit Eisenchlorid sowie ihre außerordentlich leichte Zersetzlichkeit. Wir haben nämlich beobachtet, daß unsere Säure sowohl leicht spaltbar wie auch leicht oxydabel ist: so wurde sie z. B. durch verdünnte Schwefelsäure schon bei Zimmertemperatur zersetzt und reduzierte bei Zimmertemperatur nicht nur Eisenoxydsalze zu Eisenoxydulsalzen — wie z. B. das Selmische Reagens unter Bildung von Berlinerblau — sowie auch Kupferoxydsalze zu den entsprechenden Kupferoxydulverbindungen — worauf wahrscheinlich ihre Fäll-

barkeit durch Kupferacetat beruht —, sondern sogar die Jodsäure zu Jodwasserstoffsäure. Sollte sich diese Annahme der Identität unserer Säure mit dem Urochrom bestätigen, worüber erst weitere Untersuchungen, welche in unserem Laboratorium geführt werden, entscheiden werden, so würde das Urochrom für einen stickstoff- und schwefelhaltigen Körper erklärt werden und der interessanten Gruppe von schwefelhaltigen Säuren des Harns zugerechnet werden müssen, was wohl viel Licht auf das Verhalten der Harnfarbe sowohl unter normalen Verhältnissen wie in Krankheiten werfen würde.

Einer Besprechung bedarf noch die Frage: in welcher Beziehung stehen unsere Säuren zu der von Cloetta beschriebenen Uroprotsäure¹⁾ sowie zu der Uroferrinsäure von Thiele.²⁾

Uroprotsäure nannte Cloetta eine stickstoff- und schwefelhaltige Säure, welche er in normalem Menschenharn gefunden und einige Monate nach der Entdeckung der Oxyproteinsäure durch Bondzynski und Gottlieb beschrieben hatte: er erhielt diese Säure aus dem Harnsirup, welcher aus einem normalen Menschenharn nach der Ausfällung der Phosphorsäure und Schwefelsäure mit Barythydrat durch Einengen bereitet wurde, — durch Sättigen mit Baryumhydrat in der Wärme und Ausfällen mit Alkohol. Daß diese Methode der Darstellung einer neuen organischen Säure aus dem Harn der komplizierten Zusammensetzung dieser Flüssigkeit nicht Rechnung trug, ist wohl klar, wie es auch verständlich ist, daß eine nach dieser Methode aus dem Harn erhaltene Substanz ein chemisches Individuum nicht sein konnte, wohl aber ein Gemenge von verschiedenen und zwar nicht einmal allein von verwandten Körpern. An der Zusammensetzung der sogenannten Uroprotsäure nahmen allerdings Anteil die von uns erhaltenen stickstoff- und schwefelhaltigen Säuren und zwar vorwiegend diejenigen der Alloxyproteinsäuregruppe: daß aber die von Cloetta untersuchten Präparate nicht allein aus einem Gemenge von Baryumsalzen jener Säuren bestanden, sondern auch Körper von nicht saurem

¹⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. XL, S. 29 (1897/98).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 251.

Charakter enthielten, läßt sich bloß daraus schließen, daß der Baryumgehalt derselben von 8,9 bis 28,6% schwankte.

Auf ein Gemenge der von uns soeben beschriebenen Säuren stieß übrigens auch Pregl¹⁾ bei Gelegenheit von anderweitigen Untersuchungen des Harns: er hielt dasselbe auf Grund von Analysen für oxyproteinsaures Baryum, was übrigens bei dem damaligen Stand der Frage berechtigt war.

Nach einer Methode, welche auf das individuelle Verhalten dieser Gruppe von Verbindungen teilweise Rücksicht nahm und mehr geeignet war, zur Darstellung eines chemischen Individuums zu führen, hatte Thiele seine Uroferrinsäure erhalten. Die Methode der Darstellung der Uroferrinsäure hatte der genannte Autor auf die Fällbarkeit dieser Säure aus einem konzentrierten Harn resp. alkoholischen Auszug desselben nach dem Sättigen mit Ammoniumsulfat mit einer mit Ammoniumsulfat gesättigten Lösung von Eisenammoniumalaun begründet: zu dieser Fällung hatte er jedoch seinen Harnauszug vorher zumeist nach dem Sättigen mit Ammoniumsulfat von fremden, schmierigen Substanzen befreit und zwar durch Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure. Die auf diese Weise dargestellte Uroferrinsäure genannte Verbindung zeigte sowohl im chemischen Verhalten wie in der Zusammensetzung soviel Ähnlichkeit mit der früher von Bondzyński und Panek erhaltenen Alloxyproteinsäure, daß wir uns wundern, daß Thiele den Beziehungen seiner Säure zur Alloxyproteinsäure keine Aufmerksamkeit geschenkt hatte. An der Hand der vorliegenden Untersuchung ist nämlich ersichtlich, daß Thiele bei seiner Arbeit Körper der Alloxyproteinsäuregruppe in den Händen gehabt hatte; seine Uroferrinsäure scheint nämlich sowohl zu der Alloxyproteinsäure wie zu der von uns gefundenen urochromähnlichen Säure in genetischer Beziehung zu stehen. Identisch ist dieselbe allerdings mit keiner von den genannten Säuren. Sie unterscheidet sich von den beiden Säuren hauptsächlich durch das Verhalten ihres Schwefels, welcher nach Thiele durch Kochen mit Alkalien sich nicht abspalten ließ, während die Alloxyproteinsäure

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. LXXV.

und die urochromähnliche Säure einen Teil ihres Schwefels mit Alkalilauge schon in der Kälte und in der Wärme wohl einen größeren Teil desselben abgaben. Von der Alloxyproteinsäure unterscheidet sich außerdem die Uroferrinsäure durch die Fällbarkeit mit Phosphorwolframsäure, welches Verhalten sie wiederum mit dem «Urochrom» teilt, von dem «Urochrom» dagegen dadurch, daß sie, ähnlich wie Alloxyproteinsäure, mit Eisenchlorid keine Fällung gab. Da die Uroferrinsäure die Schwerlöslichkeit ihres Baryumsalzes in Alkohol und die Fällbarkeit mit Quecksilberacetat, sowie als basisches Bleisalz mit den Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe gemein hat, so müßte dieselbe, falls sie wirklich im Harn enthalten wäre, bei der oben beschriebenen Darstellung der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe in dem rohen Gemenge dieser Säuren, welches nach dem Zerlegen des Bleiniederschlags erhalten wurde, sich befinden. Nun dies traf mit Bestimmtheit nicht zu. Die Uroferrinsäure enthält nach Thiele in ihrem Molekül eine gepaarte Schwefelsäure; nun konnten wir aber in dem rohen Gemenge der Säuren der Alloxyproteinsäuregruppe trotz der genauen Befolgung des Spaltungsversuches von Thiele eine gepaarte Schwefelsäure nicht nachweisen. Schwefel, in der Form von Ätherschwefelsäure, enthielt aber auch überhaupt keine von den von uns gefundenen, im normalen Menschenharn enthaltenen, stickstoff- und schwefelhaltigen organischen Säuren. Ein Präparat von Baryumsalzen dieser Säuren (34 g), welches aus 10 l Harn nach dem Eindampfen desselben in vacuo zur Sirupkonsistenz, Ausziehen mit Alkoholäther, Fällern mit Quecksilberacetat, Binden der freien Säuren an Baryt, Konzentrieren und Fällern mit Alkohol eigens dazu dargestellt wurde, ließ nämlich durch 72 stündiges Kochen mit Salzsäure bei Gegenwart von Zinnchlorür keine Schwefelsäure abspalten. Eine Verbindung vom Charakter eines Schwefelsäureesters, welche mit Quecksilberacetat fällbar wäre und ein in Alkohol unlösliches Baryumsalz gäbe, ist im normalen Menschenharn nicht enthalten. Die Uroferrinsäure ist offenbar ein Produkt der Zersetzung des «Urochroms» oder der Alloxyproteinsäure oder auch beider Säuren zugleich. Nur mit einer Zersetzung dieser Säuren können wir uns die Beobachtung von Thiele

erklären, daß seine Uroferrinsäure beim Kochen mit Alkalilauge keinen Schwefel abspalten ließ. Alle von uns erhaltenen Säuren, besonders aber das schwefelreiche «Urochrom», waren in der Tat der Wirkung sogar geringer Mengen von freien Mineralsäuren gegenüber sehr wenig beständig: sogar beim mäßigen Erwärmen mit verdünnter Salzsäure spalteten sie reichlich Schwefelwasserstoff ab. Diesem Umstand trug die Methode der Darstellung der Uroferrinsäure keine Rechnung. Die Vorsicht z. B., welche Thiele beim Eindampfen von Lösungen der Uroferrinsäure oder bei der Ausfällung des Barytüberschusses aus der Lösung ihres Baryumsalzes mit Kohlensäure beobachtet hatte, hat ihn nicht gehindert, angeblich zur Entfernung gewisser schmieriger Verunreinigungen in den mit Ammoniumsulfat gesättigten Harn konzentrierte Schwefelsäure einzugießen, sowie den die Uroferrinsäure enthaltenden Eisenniederschlag in verdünnter Schwefelsäure in der Wärme zu lösen. Daß das «Urochrom» — welches in den Präparaten von Thiele sicher enthalten war, denn dieselben gaben eine Fällung mit Kupferacetat — bei dieser Behandlung zum größeren Teil zerlegt und zwar teilweise gespalten, teilweise durch Eisenoxydsalze oxydiert wurde, unterliegt für uns keinem Zweifel. Die Methode war aber auch imstande, nicht nur Spaltungsprozesse, sondern auch eine Addition der Schwefelsäure zustande zu bringen: wir vermuten nämlich, daß gerade diesem Umstand der Gehalt der Uroferrinsäure an der gebundenen Schwefelsäure zuzuschreiben ist.

Analytische Belege.

Der Zusammenstellung von analytischen Daten müssen wir eine Besprechung der Methoden der Analyse vorausschieken. Die Methoden der Analysen dürfen nämlich nicht ungenannt bleiben, nicht nur weil bei den hochmolekularen Körpern wie den unsrigen eine besondere Präzision der Analyse erforderlich ist, wenn zur Ausführung von empirischen Formeln einigermaßen brauchbare Resultate erlangt werden sollen, sondern auch deshalb, weil viele allgemein gebrauchte Verfahren der Elementaranalyse mit Hinsicht auf größere Genauigkeit zu wünschen übrig lassen — man braucht ja nur an die Differenzen zwischen den von verschiedenen Forschern für die Zusammensetzung des Eieralbumins oder des Hämoglobins gefundenen Prozentzahlen zu denken — sowie auch, weil im besonderen

geprüfte Anweisungen zur Analyse von stickstoff- und schwefelhaltigen organischen Salzen von schweren Metallen fehlen.

Zur Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung wurden unsere Verbindungen in offenen Röhren im Sauerstoffstrom verbrannt, unter Vorlegen einer Rolle aus Kupferdrahtnetz, einer anderen aus Silberblech, sowie einer 10 cm langen Schicht von Bleichromat: die Baryumsalze jedoch, nachdem sie vorher mit Kaliumbichromat und Bleichromat in Schiffchen (aus reinem Kupferblech) vermischt wurden. Die Stickstoffbestimmungen wurden zum größeren Teil nach der von Makris¹⁾ verbesserten Natronkalkmethode ausgeführt, indem der Stickstoffgehalt bald aus dem Gewicht des Ammoniumplatinchlorids, bald aus demjenigen des Platinschwamms berechnet wurde, teils nach der Methode von Dumas,²⁾ jedoch in der von Guillemard und Dombrowski³⁾ empfohlenen Modifikation derselben und zwar in der Berücksichtigung der Schwierigkeit, welche bei der gewöhnlichen Ausführung der Methode von Dumas das Austreiben von Luft aus der Verbrennungsröhre bietet. Bei der Schwefelbestimmung wurde bald die alte Liebigsche Methode, bald die von v. Asbóth empfohlene Oxydation mittels Natriumperoxyd⁴⁾ befolgt, indem jedoch in beiden Fällen in einer Silberschale und an einer Benzinlampe geschmolzen wurde. Die Silbersalze haben wir vorgezogen, nach der zuerst genannten Methode zu verbrennen, weil nach dem Auflösen der nach jener Methode erhaltenen alkalischen Schmelze stets ein vollkommen silberfreies Filtrat erhalten wurde, was beim Verbrennen mittels Natriumperoxyd selten zutrifft. Allerdings mußte bei der Liebigschen Methode außer einem schwefelfreien Kalihydrat eine vollkommen schwefelsäurefreie Salzsäure zu Gebote stehen und da sogar die «garantiert reine» Salzsäure des Handels als nicht vollkommen schwefelsäurefrei sich erwies, eine reine Salzsäure von uns selbst bereitet werden — was, beiläufig bemerkt, keine Schwierigkeiten bietet, jedoch unter der Voraussetzung, daß zum Sättigen mit Chlorwasserstoff ein eigens dazu hergestelltes, von Sulfaten freies destilliertes Wasser benutzt wird.⁵⁾ Der Silbergehalt der Silbersalze wurde durch Verbrennen derselben und Glühen des metallischen

¹⁾ Liebigs Annalen, Bd. CLXXXIV, S. 371.

²⁾ Die aus dem Ammoniumplatinchlorid berechneten Prozentzahlen stimmten immer so gut mit den aus dem Gewicht des Platins ermittelten überein, daß auf das umständliche Einäschern des Ammoniumplatinchlorids manchmal verzichtet wurde.

Bulletin des sciences pharmacolog. Juillet 1902.

⁴⁾ In der Ausführung nach G. Modrakowski. Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 562.

⁵⁾ Das im großen durch Destillation aus einem kupfernen Kessel bereitete Wasser enthielt immer eine geringe Menge von Sulfaten und zwar trotz des sehr geringen Schwefelsäuregehaltes (2 mg SO₃ pro 1 l) des zur Destillation benutzten Wassers.

Silbers ermittelt, wobei zu bemerken ist, daß das Glühen unbeachtet der weißen Farbe des Glührückstands bis zum konstanten Gewicht fortgesetzt werden mußte. Zur Bestimmung von Baryum wurde die abgewogene Menge eines Baryumsalzes im Platintigel in Wasser gelöst und mit einer berechneten Menge normaler Schwefelsäure zerlegt, worauf die Lösung eingengt und der Rückstand eingeäschert wurde; das Abrauchen der Schwefelsäure, welche nur in sehr geringem Überschuß zugesetzt wurde, verlief dann glatt und die erhaltene Asche bestand immer aus reinem Baryumsulfat. Die Bestimmung des Quecksilbergehaltes in den betreffenden Salzen wurde nach der Oxydation derselben in Kjeldahlschen Kölbchen mittels eines Gemisches von konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure (im Verhältnis auf 1 g Substanz 5 ccm H_2SO_4 und 5 ccm HNO_3) ausgeführt; nach beendeter Oxydation wurde die Salpetersäure durch weiteres Erhitzen verjagt, die erhaltene schwefelsaure Lösung nach dem Verdünnen mit Wasser mit Natronlauge bis zum Auftreten der alkalischen Reaktion versetzt, darauf mit Salzsäure angesäuert und zur Ausfällung des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Quecksilber wurde als Quecksilbersulfid gewogen.

Zu Tabelle I.
Baryumsalz.

Prä- parat	Baryumbestimmungen			Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl			
	Sub- stanz g	BaSO ₄ g	Ba %	Sub- stanz g	$\frac{1}{4}$ N-Säure ccm	$\frac{1}{10}$ N-Lauge ccm	N %
1	0,3777	0,1613	25,10	0,4682	30	24,2	15,19
2	0,2871	0,1261	25,82	0,4943	24	6,1	15,26
3	0,1827	0,0837	26,93	—	—	—	—
4	0,2160	0,0940	25,58	—	—	—	—
5	0,4198	0,1724	24,14	0,6750	35	10,4	15,99

Prä- parat	Stickstoffbestimmungen nach Will- Warrentrap				Schwefelbestimmung		
	Sub- stanz g	(NH ₄) ₂ PtCl ₆ g	Pt g	N %	Sub- stanz g	BaSO ₄ g	S %
2	—	—	—	—	0,6613	0,0922	0,87
3	0,2636	0,5805	0,2573	14,02	—	—	—
4	0,2218	0,5297	—	15,08	—	—	—

Silbersalz.

Präparat	Silberbestimmungen			Stickstoffbestimmungen nach Will-Warrentrap			
	Substanz g	Ag g	Ag %	Substanz g	(NH ₄) ₂ PtCl ₆ g	Pt g	N %
1	—	—	—	—	—	—	—
2	0,2832	0,1161	40,99	—	—	—	—
3	0,3558	0,1433	40,27	—	—	—	—
4	0,4044	0,1622	40,10	0,2707	0,6198	0,2739	14,53
5	0,3673	0,1466	39,91	0,2632	0,5924	0,2616	14,27
6	0,2992	0,1157	39,32	0,2236	0,5191	—	14,66
7	0,3156	0,1236	39,16	0,2448	0,5690	0,2492	14,62

Präparat	Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
1	1,6070	0,0752	0,64
2	1,5698	0,0778	0,68
3	1,6698	0,0748	0,61
4	0,6728	0,0341	0,69
5	2,3722	0,1188	0,69

Zu Tabelle II.

Baryumsalz.

0,1843 g Substanz: 0,5215 g (NH₄)₂PtCl₆ = 17,87% N
 0,2307 » » 0,0965 » BaSO₄ = 24,59% Ba.

Silbersalz.

Präparat	Silberbestimmungen			Kohlenstoff- u. Wasserstoffbestimmungen				
	Substanz g	Ag g	Ag %	Substanz g	CO ₂ g	H ₂ O g	C %	H %
A	0,5126	0,1926	37,57	0,2248	0,2268	0,0634	27,51	3,13
B	0,2586	0,0955	36,92	0,2768	0,2745	0,0779	27,18	3,09
C	0,2783	0,1023	36,75	0,2541	0,2546	0,0698		

Prä- parat	Stickstoffbestimmungen, gasometrisch					Stickstoffbestimmungen n. Will-Warrentrap	
	Sub- stanz g	N in ccm	Barometer- stand in mm	Tem- peratur in ° C.	N %	Sub- stanz g	(NH ₄) ₂ PtCl ₆ g
A	0,1492	19,8	736,6	10	15,28	—	—
B	—	—	—	—	15,38	0,2177	0,5293
C	0,2861	40,2	726,5	14	15,66	—	—

Präparat	Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
A	0,9018	0,0321	0,48
B	0,9218	0,0211	0,31
C	1,1610	0,0283	0,39

Antoxyproteinsaures Baryum aus dem Phosphorwolfram-
säureniederschlag.

0,2001 g Substanz: 0,5002 g (NH₄)₂PtCl₆ = 15,78% N

0,9924 » » 0,0273 » BaSO₄ = 0,37% S

0,2033 » » 0,0701 » » = 20,27% Ba

Zu Tabelle III.

Baryumsalz.

0,2066 g Substanz: 0,1924 g CO₂ = 25,39% C

0,0701 » H₂O = 3,77% H

0,1517 » » 14,9 ccm N, 741 mm, 15,1° C = 11,13% N

0,7778 » » 0,0447 g BaSO₄ = 0,78% S

0,2428 » » 0,1268 » » = 30,70% Ba

Silbersalz.

Prä- parat	Silberbestimmungen			Kohlenstoff- u. Wasserstoffbestimmungen				
	Sub- stanz g	Ag g	Ag %	Sub- stanz g	CO ₂ g	H g	C %	H %
A	0,3517	0,1604	45,60	—	—	—	—	—
B	0,2309	0,1036	44,86	0,2484	0,1917	0,0600	21,05	2,68
C	0,2687	0,1230	45,77	—	—	—	—	—
D	0,2855	0,1270	44,48	0,2628	0,2192	0,0648	22,74	2,74

Präparat	Stickstoffbestimmungen nach Will-Warrentrap				Stickstoffbestimmung gasometrisch			
	Substanz g	(NH ₄) ₂ PtCl ₆ g	Pt g	N %	Substanz g	N ccm	Barometerstand in mm	Temperatur in ° C.
A	—	—	—	10,34	0,1592	15,0	744,8	22,5
B	0,2121	0,3221	—	9,59	—	—	—	—
C	0,2073	0,3176	—	9,67	—	—	—	—
D	0,3476	0,5697	0,2483	10,26	—	—	—	—

Schwefelbestimmungen

A 1,3143 g Substanz: 0,0630 g BaSO₄ = 0,65 % S
 D 0,862 „ „ 0,0317 „ „ = 0,59 % „

Zu Tabelle IV.

Baryumsalz.

A₂ 0,1570 g Substanz: 0,1775 g (NH₄)₂PtCl₆ = 7,14 % N
 0,6534 „ „ 0,0864 „ BaSO₄ = 1,81 % S
 0,3922 „ „ 0,2100 „ „ = 31,47 % Ba

Silbersalz.

Präparat	Silberbestimmungen			Stickstoffbestimmungen, gasometrisch				
	Substanz g	Ag g	Ag %	Substanz g	N in ccm	Barometerstand in mm	Temperatur in ° C.	N %
A ₁	0,4148	0,1853	44,67	0,2937	15,6	735,9	15	5,97
A ₂	0,4903	0,2210	45,07	0,3624	23,1	731,5	16	7,12
B ₂	0,3515	0,1523	43,32	0,2023	14,0	733,2	18	7,64

Präparat	Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
A ₁	1,2270	0,1445	1,62
A ₂	1,1608	0,1471	1,74
B ₂	1,1899	0,1394	1,60

Zu Tabelle V.

Fraktion	Quecksilberbestimmungen			Stickstoffbestimmungen, gasometrisch				
	Substanz g	HgS g	Hg %	Substanz g	N in ccm	Barometerstand in mm	Temperatur in ° C.	N %
1	0,7325	0,3790	44,60	0,2696	15,9	737,3	19,0	6,52
2	0,5348	0,3099	49,95	0,2675	13,4	716,2	20,0	5,50
3	0,5424	0,3380	53,71	0,2695	12,4	719,1	21,0	5,05
	0,2981	0,1852	53,55					
4	0,7018	0,4830	59,32	0,2579	12,0	718,1	20,5	5,11

Fraktion	Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
1	1,7155	0,2181	1,73
2	1,4691	0,1259	1,17
3	1,0289	0,0588	0,78
4	0,8874	0,0350	0,54

Mit Tierkohle entfärbtes Präparat.

Quecksilbersalz
0,8810 g Substanz:
0,0534 g BaSO₄ = 0,84 % S.

Silbersalz
0,9685 g Substanz:
0,0795 g BaSO₄ = 1,12 % S.

Quecksilberfällungen 1α und 1β.

1α) 1,6448 g Substanz: 0,1794 g BaSO₄ = 1,49 % S

1β) 1,5954 g Substanz: 0,1783 g BaSO₄ = 1,52 % S

Zu Tabelle VI.

Baryumsalz.

Fraktion 2: 0,3481 g Subst.: 22,1 ccm N; 733 mm; 16,1° C. = 7,13 % N
0,6291 g Subst.: 0,0610 g BaSO₄ = 1,34 % S
0,2399 g Subst.: 0,1436 g BaSO₄ = 35,23 % Ba.

Silbersalz.

Fraktion	Silberbestimmungen			Kohlenstoff- u. Wasserstoffbestimmungen				
	Substanz g	Ag g	Ag %	Substanz g	CO ₂ g	H ₂ O g	C %	H %
1	0,3306	0,1413	42,52	0,2773	0,2518	0,0682	24,76	2,73
2	0,3179	0,1503	47,28	0,2484	0,2025	0,0600	22,23	2,68
3	0,3215	0,1518	47,21	0,3317	0,2695	0,0801	22,16	2,68
4	0,3805	0,1841	48,30	0,3927	0,3192	0,0939	22,17	2,66
				0,3269	0,2583	0,0744	21,55	2,53

Fraktion	Stickstoffbestimmungen, gasometrisch					Stickstoffbestimmungen nach Will-Warrentrap		
	Substanz g	N in ccm	Barometerstand in mm	Temperatur in ° C.	N %	Substanz g	(NH ₄) ₂ PtCl ₆ g	N %
1	0,2083	15,2	728,0	16,5	8,07	—	—	—
2	0,3189	17,4	738,9	16,0	6,13	0,2831	0,2700	6,02
3	0,4499	21,6	736,4	12,0	5,48	0,2792	0,2452	5,56
4	0,2563	11,5	732,5	17,5	4,96	—	—	—

Fraktion	Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
1	0,9384	0,1824	2,67
2	0,7959	0,0596	1,03
3	0,7306	0,0552	1,03
4	0,7947	0,0384	0,66

Silbersalz, Fraktion 1a.

0,2354 g Substanz: 0,3274 g (NH₄)₂PtCl₆ = 8,78% N
 0,7520 » » 0,1853 » BaSO₄ = 3,38% S.

Zu Tabelle VII.

Baryumsalz.

0,2772 g Substanz:	{ 0,2398 g CO ₂	= 23,59% C
	{ 0,0826 » H ₂ O	= 3,31% H
0,1230 » »	8,4 ccm N; 753 mm; 14°	= 7,89% N
0,3720 » »	0,0363 g BaSO ₄	= 1,33% S
0,1972 » »	0,1187 » »	= 35,38% Ba.

Silbersalz.

Präparat	Silberbestimmungen			Kohlenstoff- u. Wasserstoffbestimmungen				
	Substanz g	Ag g	Ag %	Substanz g	CO ₂ g	H ₂ O g	C %	H %
1	0,2664	0,1166	43,76	0,2168	0,1840	0,0553	23,14	2,83
				0,2344	0,2022	0,0594	23,52	2,81
2	0,2208	0,0983	44,52	—	—	—	—	—
3	0,3515	0,1523	43,32	—	—	—	—	—
4	0,2106	0,0932	44,25	—	—	—	—	—

Präparat	Stickstoffbestimmungen, gasometrisch					Schwefelbestimmungen		
	Substanz g	N ccm	Barometerstand in mm	Temperatur in ° C.	N %	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
1	0,1527	10,4	737,0	19,0	7,52	0,7459	0,0613	1,12
2	0,2136	14,3	752,9	12,0	7,80	0,4990	0,0496	1,36
3	0,2023	14,0	733,2	18,0	7,64	—	—	—

Das Kupfersalz des «Urochrom».

0,3739 g Substanz:	0,5040 g CO ₂	= 36,76% C
	0,1197 » H ₂ O	= 3,56% H
0,2205 » »	15,6 ccm N, 745,4 mm, 13,3° C.	= 9,72% N
0,6294 » »	0,1178 g BaSO ₄	= 2,57% S
0,3658 » »	0,0772 » CuS	= 20,10% Cu.

Lwów, hygienisches Institut der Universität.