

Zur Frage der Aminosäuren im normalen und pathologischen Harn.

Von

Franz Samuely, Assistent der Klinik.

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Göttingen: Geheimrat Ebstein.)
(Der Redaktion zugegangen am 6. März 1906.)

Die vorliegende Arbeit wurde begonnen, als über die wichtige Frage der im Harn ausgeschiedenen Aminosäuren und ihren direkten Nachweis mit Hilfe der Naphthalinsulfochloridmethode nach E. Fischer und P. Bergell¹⁾ vor allem die Arbeit von Ignatowski²⁾ und eine vorläufige Mitteilung von Embden,³⁾ zur Diskussion standen. Ignatowski hatte das Auftreten größerer Mengen von Glykokoll im Harn bei Gicht, Pneumonie und Leukämie festgestellt, und es war zu entscheiden, ob dieser Befund eine speziell für die Stoffwechselstörung der Gicht konstante oder typische Erscheinung darstellte. Embden⁴⁾ teilt nun in ausführlicherer Arbeit in Gemeinschaft mit Reese mit, daß auch der Harn des gesunden Menschen Glykokoll und andere Aminosäuren enthalte, und Lipstein⁵⁾ findet die nach der Embden'schen Methode gefundenen Werte an Aminosäuren im Harn des Gichtikers und Leukämikers nicht gesteigert gegen die beim Gesunden er-

¹⁾ E. Fischer u. P. Bergell, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXXV, S. 1903.

²⁾ A. Ignatowski, Über das Vorkommen von Aminosäuren im Harn, vorzugsweise bei Gicht, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 388, 404.

³⁾ Kongreßberichte für innere Medizin, Wiesbaden 1905.

⁴⁾ G. Embden und H. Reese, Über die Gewinnung von Aminosäuren aus normalem Harn, Beiträge zur chem. Phys. u. Path., Bd. VII, S. 411 ff., 1905.

⁵⁾ A. Lipstein, Die Ausscheidung der Aminosäuren bei Gicht und Leukämie.

hobenen Zahlenwerte. Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine Abhandlung von G. Forssner,¹⁾ der das Ergebnis von Ignatowski dahin einschränkt, daß das Auftreten von Glykokoll nicht generell, aber auch nicht pathognomonisch für Gicht ist. Durch die Publikation von Embden wurden meine Versuche naturgemäß auf den Weg der Nachprüfung geleitet, und es sei sofort vorausgeschickt, daß ich bei allen Versuchen in normalen und pathologischen Harnen in keinem Fall Glykokoll vermißt habe. Es muß danach das Glykokoll zu den normalen Bestandteilen des Harns gezählt werden.

Was die Methodik betrifft, so hat man nur die ursprünglichen Angaben von Fischer und Bergell auf den Harn zu übertragen, mit der Vorsicht, Nebenreaktionen auszuschalten. Die Bleifällung des Harnes hat in verdünnter Lösung zu geschehen, da bei stärkerer Konzentration das schwerlösliche, vielleicht vorhandene Leucinblei ausfallen kann. Die Bleifällung möchte ich entgegen Forssner nicht unterlassen. Sie ist für ein sauberes Arbeiten, speziell bei Schüttelreaktionen des Harns unerläßlich. Man vermeide dabei einen Überschuß an Bleiacetat, da die beim Entbleien entstehende Essigsäure später störend wirken kann.

Die Schüttelreaktion mag mit dem eingeengten Tagesharn ausgeführt werden. Ich habe vom Einengen auf den quantitativen Verlauf der Reaktion keinen Einfluß beobachtet. Das Einengen des Tagesharns — in der Regel auf 600 ccm — soll nach Ignatowski im Vacuum geschehen, bei einem Temperaturoptimum von 47°. Ich habe mich überzeugt, daß auch nach dem Einengen auf dem Wasserbad, selbst nach 12stündigem Kochen des Harns in stark alkalischer Lösung, die mit Naphthalinsulfochlorid reagierenden Substanzen nicht zerstört werden. Vorläufig aber möchte ich das Einengen im Vacuum beibehalten, solange nicht die Gegenwart hoher zusammengesetzter Aminosäureverbindungen — Peptide — ausgeschlossen ist.

Ignatowski äthert danach den mineralisauren Harn aus. Ich habe das in allen Fällen getan, in denen ich eine positive

¹⁾ G. Forssner, Über das Vorkommen von freien Aminosäuren im Harn und deren Nachweis, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, H. 1, S. 15.

oder angedeutete Millon'sche Reaktion im Harn erhielt, zur Beseitigung der Phenole und Oxysäuren — sonst aber unterlassen.

Embden hat ferner durch Schütteln mit reichlichen Mengen von Essigäther die Hippursäure entfernt, um zu entscheiden, ob die Anwesenheit der Hippursäure — d. h. des Benzoylglykokolls — das Auftreten von Glykokoll bedingt. Er hat diese Frage im negativen Sinn entschieden und unterläßt das Ausschütteln der Hippursäure. Ich konnte dies (vergl. Tabelle, Nr. 13) bestätigen. Die Gegenwart von Hippursäure steigert nicht wesentlich die Ausbeuten an Glykokoll.¹⁾

Der so vorbereitete Harn wird alsdann alkalisch gemacht. Embden hat nun die ursprüngliche Methode, nach der man die Reaktion während der Schüttelung eben alkalisch halten soll, abgeändert, indem er den Harn stark alkalisch macht. In diesem starken Alkaleszenzgrad sieht er überhaupt eine Bedingung für das Gelingen im Nachweis von Aminosäuren im normalen Harn. Ich habe vor der ausführlichen Mitteilung von Embden genau nach der früheren Vorschrift von Fischer gearbeitet. Danach sollen 2 g Glykokoll in der für 1 Molekül berechneten Menge Natronlauge gelöst mit der ätherischen Lösung von 2 Molekülen Naphthalinsulfochlorid geschüttelt werden. Dazu wird im Verlauf von 3 Stunden noch dreimal dieselbe Menge Normalalkali gefügt. Unter Zugrundelegung der doppelten Zahlenwerte, als sie Ignatowski gefunden hat, von hypothetischem Glykokoll in dem zu untersuchenden neutralisierten Harn und bei Einhalten obiger Mengenverhältnisse an Alkali habe ich ein amidfreies Reaktionsprodukt bekommen, das durchaus die Eigenschaften des Naphthalinsulfoglycins hatte. Schmelzpunkt 152°, etwas zu nieder.

Bei diesem Versuch habe ich allerdings nur geringe Mengen erhalten, auch keine größeren Mengen anderer Aminosäuresulfone, wie sie Embden mit hohen Alkaleszenzgraden erzielte. Jedenfalls aber ist diese stark alkalische Reaktion keine *conditio sine qua non* für den qualitativen Nachweis. In Anbetracht aber der beträchtlichen Menge an Rohprodukt der Aminosäure-

¹⁾ Die in der Tabelle, Nr. 13, erfolgte Steigerung des Rohproduktes liegt innerhalb auch sonst beobachteter Schwankungen.

verbindungen bei Anwendung der Modifikation nach Embden habe ich mich später an Embden's Vorschrift gehalten und auf den Liter nicht konzentrierten Harn 40—50 ccm Normal-NaOH verwendet.

Zu der alkalischen Harnlösung wurden im Laufe von 24 Stunden 5 g β -Naphthalinsulfochlorid in 10%iger ätherischer Lösung allmählich zugesetzt. Es ist ratsam, den Harn vorher mit Äther zu sättigen. Bei allen Schüttelungen, speziell bei der ersten und zweiten, trübt sich die Lösung mehr oder weniger und beim Stehen scheidet sich ein fein krystallinischer Niederschlag ab, auch wenn die alkalische Lösung zur Entfernung des überschüssigen Säurechlorids mit Äther extrahiert wurde. Es gelingt, durch Krystallisation aus Alkohol und saurem Wasser den Körper zu reinigen. Ich habe mich überzeugt, daß die Substanz aus einem stickstofffreien und einem N-haltigen Körper besteht. Letzterer mit 6,58—6,72% N dürfte Naphthalinsulfamid sein. Schmelzpunkt 216°. Ersterer hinterließ beim Verbrennen auf dem Platinblech eine reichliche natriumhaltige Asche. Die weitere Untersuchung aber muß ergeben, ob es sich dabei nicht um ein unlösliches Na-Salz eines Disulfons einer Oxyaminosäure handelt.¹⁾

Beide Körper sind in Alkali nicht ganz unlöslich. Die Zahl der Schüttelungen: Embden wiederholt die Schüttelung, bis beim Ansäuern keine Reaktionsprodukte mehr ausfallen.

Eine getrennte Untersuchung der erhaltenen Rohprodukte von je einer Schüttelung von 8 Stunden — es wurden dazu die Proben von 6 mal 1 l Harn verwendet — ergab an N in Prozenten:

Rohprodukt der I. Schüttelung	4,53% N
„ „ II. „	5,81% „
„ „ III. „	6,70% „

bestimmt nach Kjeldahl mit der trockenen Substanz.

Es folgt daraus, daß bei der dritten Wiederholung der Reaktion anscheinend nur Naphthalinsulfamid erzielt wird. Um aber Vergleichswerte mit den Ausbeuten von Embden zu er-

¹⁾ Vergl. E. Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 51, 1905.

halten, habe ich die Schüttelung 3mal ausgeführt, allerdings bei Zimmertemperatur, 18°.

Der von dem überstehenden Äther getrennte und filtrierte Harn wird mit HCl angesäuert und der ausfallende Körper sofort mit reichlichen Mengen Äther aufgenommen. Es ist auffallend, daß das Reaktionsprodukt der Aminosäuren nicht bei eben saurer Reaktion ausfällt, sondern erst bei erheblicher Acidität eine wolkige oder milchige Trübung auftritt.

Die Nachteile einer großen Menge Säure machen sich sofort darin bemerkbar, daß sich der Harn rötet und der Äther einen Teil dieser gefärbten Substanz aufnimmt. Mehrmals sah ich bei übermäßigem Ansäuern die Harnfarbe zu grünroter Opalescenz umschlagen und den Äther sich danach tief violett färben. Es mag sich bei dieser Reaktion um Farbstoffverbindungen der Naphthole oder Phenole handeln. Jedenfalls aber gehen bei dieser Gelegenheit Substanzen in den Äther über, die nicht zu der Reihe der Aminosäuresulfone gehören, und die sowohl auf Natur, wie auf die Gewichtsmenge des Rohproduktes störend wirken.

Es folgt daraus die Vorsicht, den Grad der Säuerung so zu wählen, daß der Niederschlag eben ausfällt. Die Sulfone selbst sind äußerst leicht in Äther löslich: es empfiehlt sich, den Äther sehr gut zu waschen, da sonst nach dem Abdunsten des getrockneten Äthers konzentrierte Säuren (Salzsäure, Eisessig) zurückbleiben und speziell die eben beschriebenen farbigen Anteile des Rohproduktes in tiefrote, ölharzartige Körper verwandeln.

Der gewaschene, leicht getrocknete Äther wird bei nicht zu hoher Temperatur verdunstet. Zunächst hinterblieb nur ein rotbraunes Öl, seltener eine salbenartige Masse. Man darf sich in diesen Fällen durch den Begriff der «Schmiere» nicht abschrecken lassen, wie dies anscheinend Forssner, l. c. S. 19, getan hat. Durch vorsichtiges Zufügen von Wasser, starkes Reiben und oft tagelanges Stehen auf Eis erstarrt die Masse krystallinisch und läßt sich nach dem Filtrieren mitunter staubtrocken pulvern. Es hängt das Gelingen ganz von den gefärbten öligen Substanzen ab, deren Anwesenheit sich durch vorsichtigen Gebrauch der fällenden Säure ausschließen läßt.

Zur Reinigung dieses Rohproduktes von ihm beigemengtem Naphthalinsulfamid hat Embden den Weg über die Ammonsalze erfolgreich eingeschlagen. In der Tat gelingt es so auf einfache Weise, naphthalinsulfamidfreie, ganz schwach ammoniakalische Lösungen zu erhalten. Aus dieser Lösung können die Sulfone, mit Säure in Freiheit gesetzt, nur in Äther wieder aufgenommen werden. Nach dem Verdunsten kann das amidfreie Rohprodukt zur Wägung kommen. Es ist mir nicht ersichtlich, ob Embden die Zahlen seiner Ausbeuten auf diese Weise oder durch Abzug des Amids von dem ursprünglichen Rohprodukt gewonnen hat. Meine später anzuführenden Zahlen sind durch direkte Wägung des Rückstandes aus dieser zweiten Ätherextraktion gewonnen.

Für die Ausbeuten dieses Rohproduktes, das sicher ein Gemisch von mehreren Substanzen ist, gibt nun Embden und ebenso Lipstein Zahlenwerte bis zur dritten Decimale an; die Autoren fügen aber gleichzeitig hinzu, daß diese Werte keinen Anspruch machen können, als quantitativ zu gelten. Ich habe mich durch Einhalten ganz gleicher Versuchstechnik bei ein und demselben Harn bemüht, gleiche Werte an diesem Rohprodukt zu erhalten, bin aber oft auf sehr erhebliche Differenzen gestoßen. Sind schon aus vorerst nicht zu übersehenden Bedingungen diese Zahlen mit Kritik zu beurteilen, so ist es aber sicher nicht festgestellt, diese ganze Fraktion einfach als Aminosäureverbindung anzusprechen. Zunächst hat dieser Körper noch immer die Eigenschaft, leicht ölig zu werden, zu verharzen und sich beim Behandeln mit Säuren tiefrot zu färben, letzteres eine Eigenschaft, die sicher nicht den Sulfonen der Aminosäuren eigen ist. Ich habe wiederholt, bei vorsichtigem Ansäuern des geschüttelten alkalischen Harns und gutem Auswaschen aller Ätherauszüge, ein Rohprodukt erhalten, das nur ganz schwach gelb war und aus dem letzten Ätherextrakt sofort auskrystallisierte. In diesen Fällen waren die Ausbeuten an Rohprodukt aber immer geringer, die Ausbeute daraus an Glykokoll aber nicht vermindert. Natürlich ist es noch nicht entschieden, ob durch diese Reinigung nicht N-haltige Produkte entfernt werden, dieselben aber als Aminosäuresulfone direkt aufzufassen, dazu fehlt noch der Beweis.

Ebenso auffallend ist es, daß man aus diesem Rohprodukt später Glykokollwerte erhält, die in keinem Verhältnis stehen zu der großen Menge Rohprodukt, gar nicht zu sprechen von den Spuren anderer Aminosäuren, die Embden in den glykokollfreien Mutterlaugen gefunden hat.

Ignatowski hat zur Gewinnung von Glykokoll dieses Rohprodukt direkt mit 15%igem Alkohol heiß extrahiert und dabei das krystallisierte Naphthalinsulfoglycin erhalten. Dies Verfahren ist mit großen Verlusten verbunden. Ich bin, ehe die Publikation von Embden erschien, so vorgegangen, daß ich das Rohprodukt mit frisch gefälltem Baryumcarbonat in reichlicher Menge Wasser längere Zeit kochte. Aus den heißen Filtraten oder eingeengten Mutterlaugen krystallisierte direkt das schön weiße Baryumsalz des Glycinsulfons. Diese Methode hatte den Vorteil, daß vor allem alle harzigen Bestandteile mit dem BaCO_3 zusammenkleben und auf dem Filter zurückbleiben, sie ist aber keineswegs quantitativ. Daß aber die Methode sehr schnell zu einem analysenreifen Körper führt, geht daraus hervor, daß das in HCl in Freiheit gesetzte Sulfon sich restlos in Äther löst, beim Verdunsten krystallisiert und nach einmaliger Umkrystallisierung den richtigen Schmelzpunkt aufweist.

In allen späteren Versuchen folgte ich Embden, der dies amidfreie Produkt nach dem Vorschlage von Emil Abderhalden und Bergell¹⁾ in NH_3 löst, und in eben neutraler Reaktion bei großer Verdünnung mit BaCl_2 fällt. Er unterscheidet dabei zwei verschiedene Ba-Salze, ein in Wasser sehr schwer lösliches, angeblich viel schwerer löslich als das Ba-Salz des Naphthalinsulfoglycins, und eines von mittlerer Löslichkeit. Ich habe zur Entscheidung aus sehr großer Verdünnung gefällt, filtriert und aus der Mutterlauge noch 2 oder 3 Fraktionen durch Einengen gebildet. Aus allen Fraktionen habe ich nach dem Umsetzen mit HCl die Glykokollverbindung krystallisiert erhalten, auch aus dem ersten sehr schwer löslichen Ba-Salz. Die Identität ist festgestellt durch den Schmelzpunkt

¹⁾ Emil Abderhalden und Peter Bergell, Über das Auftreten von Monoaminosäuren im Harn von Kaninchen nach Phosphorvergiftung. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 464, 1903.

der isolierten Substanzen und ihrer Mischung mit einander. Schüttelt man den Harn ohne den starken Alkalizusatz, d. h. ohne die Modifikation von Embden, so findet sich die Säure, die dieses ganz schwer lösliche Baryumsalz bildet, nicht in dem entstehenden, vom Amid befreiten Rohprodukt. Untersucht man aber die bei schwacher Alkaleszenz bei der Schüttelreaktion aus dem Harn ausfallenden Substanzen, d. h. löst man sie in einer dem Harn gleichen Wassermenge, mit Zusatz von 40 ccm NaOH normal — es geht nur ein Teil in Lösung — und behandelt diese weiter wie einen bereits geschüttelten Harn auf Aminosäuren, dann gewinnt man reichliche Mengen dieses schwerlöslichen Ba-Salzes. Es mag sein, daß dies der Grund für die geringeren Ausbeuten an Glykokoll ist ohne starken Alkalizusatz zum Harn. Sicher aber ist, daß dies schwer lösliche Baryumsalz auch glykokollfrei sein kann, also eine Substanz sui generis noch ist, nämlich dann, wenn ich überhaupt kein Glykokoll im Harn fand, wie dies im Harn bei einem Hungerhund der Fall war.

Ich kann mich Embden aber nicht anschließen, daß auf diesem Weg eine quantitative Trennung des Glykokolls gelingt. Aus demselben Grund aber muß man alle Zahlen, die als Ausbeuten die sogenannte Glykokollfraktion darstellen, z. B. von Forssner, ebenso anzweifeln. Ich habe wohl zur Bestimmung des Glykokolls immer die Gesamtheit der Baryumsalze verarbeitet, lege aber auf die Ausbeutezahlen der aus dem Äther verbleibenden Krystallmenge keinen allzu großen Wert. Auch ist dieser Körper immer noch nicht frei von fremden Beimengungen, wie sie beim Rohprodukt beschrieben sind.

Zur Isolierung des Glykokolls haben Ignatowski und Forssner aus verdünntem Alkohol, Embden aus heißem Wasser krystallisiert. In beiden Fällen bleibt ein sich rotfärbendes Öl schwer löslich oder ungelöst, das am Boden des Gefäßes schwimmt und hartnäckig einen Teil der Glycinverbindung festhält. Man tut nun gut, bei der Reindarstellung die «Glykokollfraktion» nur leicht mit Wasser zu erwärmen, gut zu rühren, dies in kleinen Portionen oft zu wiederholen, und getrennt zu filtrieren. Während in den letzten Filtraten entweder nur schlechte Krystallisation

oder überhaupt nur rötliche Öltropfenfällung erfolgt, fallen aus den ersten Filtraten wohlausgebildete farblose Nadeln vom beinahe richtigen Schmelzpunkt 152/153.

Man kann dann mit den Fällungen der späteren Filtrate wieder genau so verfahren und sich von den öligen Verunreinigungen freimachen. Einmaliges Umkrystallisieren der Krystallmengen aus den ersten beiden Filtraten hat mir analysenreifes Material gegeben. Auf diese Weise sind die Zahlenwerte in den Tabellen gewonnen, die ohne allzu große Verluste erzielt sind, vergleiche S. 386. Aus den öligen Rückständen habe ich mich bemüht, durch Veresterung mit Salzsäure in alkoholischer Lösung greifbare Substanzen zu erhalten, aber vergeblich. Ich erhielt tiefrot gefärbte Lösung, und beim Eintragen in Wasser ölige rote Fällung, die nicht erstarrte. Ich glaube bei der Schwerlöslichkeit des Glycinsulfons, daß diese Methode des Umkrystallisierens nicht mit Verlusten an Glycinverbindung verknüpft ist, sondern mit der Entfernung von Nebenprodukten.

Zugleich sei erwähnt, daß man in der Beurteilung der Reinheit und der Identifizierung der Aminosäurensulfone nicht vorsichtig genug sein kann. Jedenfalls genügt eine Fällung mit Metallsalzen oder ein Schmelzpunkt keineswegs. Speziell die Schmelzpunkte sind kritisch zu beurteilen. Schmelzpunkte von Substanzen bei 149° — Leucinverbindung (?) — sah ich nach abermaligem Umkrystallisieren¹⁾ auf 155° steigen. Auch die alleinige Bestimmung des Stickstoffgehaltes ist in keiner Weise ausreichend. Es lassen sich da, besonders bei der Vermutung von Sulfoverbindung mit Peptiden oder peptidähnlichen Körpern,²⁾ alle möglichen Identitäten rechnerisch feststellen. Die gut stimmende Elementaranalyse muß da entscheiden, da die Werte z. B. für das Sulfon des Glykokolls und des Alanins schon sehr nahe aneinander liegen.

Die folgenden Analysen beziehen sich auf die Fälle, die in der Tabelle mit Nr. 16 und 17 und Nr. 5, 6 und 7 angegeben sind, eine dritte Analyse von Nr. 12, 13, 14 gab richtigen Wert für H, für C einen Wert, der den theoretischen um 1% übertraf.

¹⁾ Vergl. hierzu Forssner, l. c. S. 23.

²⁾ Mohr, Zeitschrift für experimentelle Pathologie.

Der theoretische Wert für $C_{10}H_7SO_2NHCH_2COOH$:

$$C = 54,34\%$$

$$H = 4,15\%$$

0,1578 g Substanz gaben 0,3123 g CO_2 und 0,0606 g H_2O , Schmelzp. 156°

C gefunden: 54,08%

H : 4,27%

0,1766 g Substanz gaben 0,3548 g CO_2 und 0,0691 g H_2O , Schmelzp. 155°

C gefunden: 54,79%

H : 4,34%

Was die Ausbeuten an reinem Glykokoll betrifft, so macht Embden die eine Angabe: aus 600 ccm Harn gewann er 0,4 g der «Glykokollfraktion», d. h. pro die bei maximaler Ausbeute von 2,80 g Rohprodukt der Aminosäureverbindungen = 0,83 g Glykokollverbindung.

Aus den Mutterlaugen der Baryumsalze der Sulfone hat Embden noch die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin wahrscheinlich gemacht. Ich habe keine Drehung der Polarisations-ebene durch die alkoholische Lösung dieser Reste gesehen, die wie die Ba-Salze des Glykokolls weiter verarbeitet worden waren. In einem Versuch der Veresterung kam ich zu Produkten, deren Schmelzpunkt um 76° herum lag.

In einem Versuch habe ich die von allen Versuchen vereinigten Mutterlaugen eingeengt und aus den Rückständen nach der Vorschrift von Fischer durch Salzsäure im Rohr die freien Aminosäuren abgespalten. Nach Abscheidung des Naphthalinsulfochlorids zeigte die Lösung keine optische Aktivität. Die Frage, ob und welche anderen Aminosäuren außer Glykokoll noch vorhanden sind, habe ich unbeantwortet gelassen.

Ich lasse nun tabellarisch die Fälle folgen, bei denen ich quantitativ, d. h. bei Konstanz der Versuchsanordnung und Mengenverhältnisse zu Vergleichswerten gekommen bin.

Die Zahlen beziehen sich, wo nichts Näheres angegeben ist, auf den Tagesharn. In allen Fällen habe ich 1000 ccm des bereits bleigefällten und entbleiten Harns in Arbeit genommen. Die sogenannte «Glykokollfraktion» habe ich wegen ihrer Unreinheit später nicht mehr gewogen, sondern direkt weiter verarbeitet. Die Zahlen der dritten Kolonne beziehen sich auf analysenreines Naphthalinsulfoglycin.

Nr.	Namen	Krankheit	Tages- harn ccm	Roh- produkt amidfrei auf Tages- harn berech- net	Gly- kokoll- frak- tion g	Naph- thalin- sulfo- glycin im Tages- harn rein	Nahrung Therapie
				g		g	
1	Willing	Gesund	1250	1,282	—	0,134	Gewöhnliche Kost
2	„	„	1200	1,393	—	0,144	„
3	„	„	1220	1,196	—	0,141	Gew. Kost + 3 Pfund Kalbsbries
4	Reichert	Unfallsneurasthenie Gewichtszunahme	1250	1,758	—	0,165	—
5	Richard	Spastische Spinal- paralyse. Bettruhe	1130	1,92	0,2702	0,1790	Gewöhnliche Kost
6	4 aufeinander folgende Tage	während d. Versuchs. Gewichtszunahme	1200	0,921	0,269	0,1761	Desgl. + 11 Eier
7			1100	1,432	—	—	Gewöhnliche Kost
8			1150	1,110	—	0,1592	Desgl. + 16 Eier + 120 g Nutrose
9	Weissshagen von 3 Tagen	Gichtanfall vor 8 Jahren, arthritische u. neurit- ische Beschwerden, reichl. Uratsediment	5610	8,23	—	0,73	Ohne Medikation gewöhnl. Kost
10	von 2 Tagen		3115	5,492	—	0,41	2 Tage gew. Kost + 2 1/2 g Kalbsbr. p. d.
11	von 1 Tag		1220	1,82	—	0,126	Gewöhl. Kost
12	Kohn	Croupöse Pneumonie Tag der Aufnahme	1480	0,824	—	0,144	Ohne Medikation
13	„	4. u. 5. Krankheitstag davon 1500 von Hippursäure befreit	3000	0,729	—	0,034	pro die 10,0 Natron benzoicum
14	„	1500 unverändert 8. Tag der Krise	1380	0,832 0,0578	—	0,056 0,293	
15	Isebiel	Anaemia splenica Milztumor von 2 Tagen	2800	2,554	1,346	0,522	Ohne Medikation
16	10 Tage nach Aufnahme	von 2 Tagen davon 1500 1500 alkal. gekocht*)	1500	1,192	—	0,1823	Tägl. Arsentherapie Kakodylinjektionen
17	20 „		3000	1,162	0,353	0,152	
				1,443	—	—	
18	W.	Myelogene Leukämie	1500	1,621	—	0,1729	Keine Medikation gewöhnl. Kost
19	„	Erhebl. Besserung Kleiner Milztumor	1200	2,432	—	0,3640	12 Tage intensive Röntgenbestrahlg
20	„		1220	2,520	—	0,220	4 Tage vorher Be- strahlung ausgesetzt

*) 6 Stunden bei starker Alkaleszenz gekocht.

Zu den einzelnen Versuchen ist nicht viel zu bemerken. Ich habe außer den angeführten Fällen von Gesunden zahlreiche andere normale Harne qualitativ auf Glykokoll geprüft und von 8 Fällen nur 2 glykokollfrei gefunden. Die Glykokollausscheidung ist keine für das Individuum konstante Größe (vgl. Nr. 5 u. 7, Nr. 1 u. 2).

Betrachtet man ganz allgemein diese Zahlen, so ergibt sich bei der Konstanz der angewandten Methode auch eine Konstanz der Ausbeuten an Rohprodukten im Tagesharn. Die einzigen Fälle, in denen diese Menge erheblicher ist, betreffen den Fall 5 und 4. Verglichen mit den Zahlen, die Embden für den normalen Harn, und Lippstein speziell für den Leukämikerharn angibt, sind die Differenzen nicht groß genug, um daraus Schlüsse zu ziehen. Bei dem Fall 19 und 20 der Leukämie ist es schon möglich, daß die Bestrahlung mit Röntgenstrahlen die Steigerung der Ausbeute bedingt hat. Eindeutig aber ist diese Beeinflussung nicht, da die Steigerung auch nach dem Aussetzen der Röntgentherapie anhält.

Vergleicht man die Werte für das Rohprodukt bei Krankheiten (12—18) mit denen der Normalen, so machen sich außer bei der Pneumonie keine nennenswerten Differenzen bemerkbar. Nur bei der Pneumonie stoßen wir auf geringere Zahlenwerte. Übereinstimmend mit Ignatowski steigt die Menge der Aminosäuren im Harn nach erfolgter Krisis.

Die Fütterungsversuche sind nicht zahlreich genug, um bindende Schlüsse zu liefern, aber nicht sehr ermutigend. Bei Fütterung mit Bries (Nr. 3, 10) findet sich keine Steigerung, sondern eher eine Verminderung des Rohproduktes, das gleiche gilt auffallenderweise für die Fütterung mit Eiweiß. Es muß aber zugegeben werden, daß einerseits zur Entscheidung der Frage die Eiweißmasse nicht groß genug ist, andererseits wahrscheinlich der momentane Ernährungszustand des Versuchsobjektes mit entscheidend ist, ob die Aminosäurenausscheidung ansteigt.

Da ich schon früher ausgeführt habe, daß ich in den Werten des Rohproduktes keine Minimalzahlen, sondern eher Maximalzahlen im Sinne von Substanzgemischen sehe, will ich

auf diese Zahlen selbst keinen allzu großen Wert legen. Viel wichtiger aber erscheinen mir die Zahlen, die für Naphthalinsulfoglycin angegeben sind. In diesen kann ich Vergleichswerte untereinander sehen, die nun sicher Minimalzahlen sind. Vielleicht sind andere Untersucher in den Ausbeuten glücklicher. Die Zahlen beziehen sich auf analysenreines Naphthalinsulfoglycin. Eine Übersicht über diese Werte aber zeigt eine gewisse Konstanz in dem Auftreten von Glykokoll, ohne allzugroße Differenzen.

Ein bestimmtes Mengenverhältnis Rohprodukte zu Glykokollwert aber ließ sich vorerst nicht feststellen.

Wichtig erscheint es mir, daß bei den Fütterungsversuchen 5, 6, 8 die Werte für Glykokoll sehr gut übereinstimmen, indes die Werte des Rohproduktes erheblich am Normaltag und Fütterungstag auseinander liegen. Eine wirklich bedeutendere Steigerung an Glykokoll findet sich nur wieder in Analogie zum Steigen der Rohproduktmenge im Fall 19, bei der Leukämie.

Die Zahlenwerte für die Glykokollverbindung, die zwischen 182—165 bzw. 134 mg schwankt, differierten nicht allzusehr von der Ausbeute, die Forssner in einem Fall von 186 mg angibt. Es mag Zufall sein, daß diese Werte bei den einzelnen Patienten so nahe aneinander liegen, während Forssner Fälle fand, in denen das Glykokoll nur spurenweise vertreten war. Ich selbst will auch nur mit Vorsicht darauf hinweisen, da die untersuchten Fälle sicher nicht zahlreich genug sind.

Einer gesonderten Besprechung bedarf der Fall von Pneumonie, denn er gestattet eine Vermutung über die Form, in der möglicherweise das Glykokoll im Harn vertreten ist. Die Steigerung an Glykokoll am Tage der Krise gegen den Krankheitsverlauf ist schon erwähnt; sie entspricht durchaus der Vorstellung des plötzlichen Eiweißzerfalls und Abbaus in der Lunge und dem Entstehen reichlicher Abbauprodukte, die wir mit der Krise in Verbindung bringen. Nun differieren die Werte an Rohprodukt am Tage der Aufnahme ohne Medikation nicht von den Tagen der Benzoessäureeinfuhr, wohl aber verringern sich die Werte an reinem Glykokoll nach Benzoessäuregaben ganz erheblich. Was läßt sich daraus folgern? Es verschwindet trotz der abun-

danten Benzoessäuregaben nicht alles Glykokoll im Harn, sondern nur ein Teil. Forssner teilt mit, daß er nach Benzoessäure und Salicylsäure den Harn glykokollfrei fand. Arbeitet man nun nach der Methode von Embden, so läßt sich trotz der Benzoesäure noch Glykokoll nachweisen. Das führt eigentlich zu der Vorstellung, daß das Glykokoll in 2 Formen auf dem Blutweg in den Harn gelangt. Einmal als freies Glykokoll, das im Fall 13 und 14 durch Benzoessäure als Hippursäure abgefangen wird. Zum andern aber ist noch Glykokoll in einer noch unbekanntenen Bindung vorhanden, das durch das Behandeln mit starker Alkaleszenz freigemacht wird, das aber wegen seiner Bindung der Kuppelung an Benzoessäure nicht zugänglich ist. Zu entscheiden, ob dieser glykokollhaltige Körper ein Produkt des intermediären Stoffwechsels oder ein polypeptidartiger Restkörper des Nahrungseiweißes in Sinne des Befundes von Abderhalden und Pregl¹⁾ ist, reicht die Zahl der vorliegenden Versuche nicht aus.

Bemerkenswert aber ist, daß mir nach der Methode von Embden der sichere Nachweis von Glykokoll im Harn des Neugeborenen gelungen ist. Es handelt sich um den eiweißfreien Harn von 2 gesunden Brustkindern, aufgefangen vom 14. und 16. Tage nach der Geburt. Ich habe mich überzeugt, daß der Harn allantoinfrei war.

Nach der Methode von Embden, d. h. bei starker Alkaleszenz, habe ich aus 600 ccm Harn 0,031 g Naphthalinsulfoglycin gewonnen. Das mit Hilfe von BaCO_3 gewonnene Baryumsalz ergab sofort nach dem Umsetzen mit HCl ein krystallisierendes Produkt; nach Umkrystallisieren hatte es den genauen Schmelzpunkt von 156° , sein Äthylester von 77° .

Ich habe diesen Befund ein zweites Mal bestätigt. Das Auftreten von Glykokoll im Harn des nur mit Casein, d. h. einem glykokollfreien Eiweiß ernährten Organismus, ist ein Fingerzeig, daß dieser glykokollhaltige Körper wohl ein Produkt des intermediären Stoffwechsels ist.

¹⁾ Emil Abderhalden und Fritz Pregl, Über einen im normalen menschlichen Harn vorkommenden, schwer dialysierbaren Eiweißabkömmling, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 19, 1905.

Von Neuberg und Wohlgemuth¹⁾ ist kürzlich mitgeteilt worden, daß der Glykokollgehalt des normalen Harns ca. 0,0025% beträgt. Die Bestimmung desselben geschah durch Isolierung mit Naphthylcyanat. Wenn ich einzelne der hier gefundenen Sulfonwerte auf freies Glykokoll umrechne, so ergibt sich z. B. für den Fall 1 des Gesunden in Prozenten = 0,00244 g Glykokoll, für Fall 4 desgl. gesund, 0,0030 g für Fall 5 0,0036 g usw., d. h. Schwankungen innerhalb nicht zu großer Grenzen.

Ich will mir aber nicht verhehlen, daß diese Rechnungen in gewissem Sinn Spielereien sind, und daß es jetzt zweckmäßiger ist, quantitative Entscheidungen noch zu unterlassen. Vor allem aber ist es durchaus hinfällig, die Ausbeuten des Rohprodukts an Aminosäuren etwa in klinischen Fragen quantitativ zu bewerten. Man würde vorerst in diese Fragen einen Begriff eindringen lassen, der eher verwirrend als klärend wirken kann.

¹⁾ Neuberg und Wohlgemuth, Sitzung der Gesellschaft der Charitéärzte vom 1. Februar 1905.