



UEBER DAS
VORKOMMEN VON KOHLEHYDRATEN
IM HARN VON TIEREN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOCTORWÜRDE

VORGELEGT DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FACULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT

ZU

FREIBURG IN BADEN

VON

ERNST ROOS

APPROB. ARZT

AUS LICHTENAU.

(BADEN).



FREIBURG I. B.

UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI VON CHR. LEHMANN.

1891.

Rectorats - Jahr 1890/91.

DER DEKAN:

Prof. Dr. Baumann.

DER REFERENT:

Prof. Dr. Baumann.

Meiner Mutter gewidmet.

Die alte Streitfrage, ob der normale menschliche Harn Kohlehydrate enthält ist jetzt zu einem endgiltigen Abschluss gebracht und das Vorkommen von geringen Mengen von Kohlehydraten im normalen Menschenharn mit Sicherheit erwiesen. Landwehr führte den ersten positiven Beweis, indem er ein dextrinartiges Kohlehydrat aus normalem Harn darstellte, welches er das „thierische Gummi“ nannte. Weiteren Aufschluss über diese Verhältnisse brachte eine vor mehreren Jahren von Baumann ¹⁾ angegebene Methode, welche darauf beruht, dass Kohlehydrate aus wässerigen Lösungen durch die Einwirkung von Benzoylchlorid leicht in Form unlöslicher Benzoylverbindungen ausgefällt werden. Um zu erkennen, ob eine Flüssigkeit Kohlehydrate enthält, braucht man sie nur mit Benzoylchlorid und Natronlauge zu schütteln, und Baumann konnte nachweisen, dass jeder normale Menschenharn, auf diese Weise behandelt solche Benzoylverbindungen liefert. Genauere Untersuchungen über die Art dieser Benzoylverbindungen stellte Wedenski ²⁾ an und fand, dass dieselben ein Gemenge von zwei Kohlehydraten darstellen, von denen

¹⁾ Bericht der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19. S. 3218.

²⁾ Zeitschrift für phys. Chemie XIII. 1889. S. 122.

das eine nach seiner Isolirung ¹⁾ sich allen Reactionen gegenüber wie Traubenzucker verhält, das andere mit grösster Wahrscheinlichkeit mit dem thierischen Gummi Landwehrs identisch ist.

Auf anderem Wege bewies v. Udránsky ²⁾ den Kohlehydratgehalt des normalen Harns und ermöglichte zugleich eine annähernde Abschätzung desselben. Er benutzte zu seinen Untersuchungen die von Molisch ³⁾ zur Erkennung des Zuckers im Harn angegebene und von ihm als Furfurolreaction erkannte und modificirte Probe mit α Naphthol und Schwefelsäure. Dieselbe beruht darauf, dass durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf ein Kohlehydrat aus diesem Furfurol abgespalten wird und dieses letztere mit α Naphthol eine schöne, violettrote Farbe liefert. Jeder normale Menschenharn zeigt diese Reaction. — Zum Zweck der quantitativen Abschätzung der Kohlehydratmenge verdünnt man den Harn so weit, dass er gerade noch die Reaction gibt, und nachdem man bei Zuckerlösungen von bekanntem Gehalt die geringste Concentration ermittelt hat, bei welcher die Reaction noch eintritt, berechnet man den Kohlehydratgehalt durch Vergleich mit der bekannten Zuckerlösung unter Berücksichtigung des Grades der Verdünnung der zu untersuchenden Flüssigkeit. Auf diesem Wege wurde in einer grossen Reihe von Untersuchungen festgestellt, dass der Gehalt des normalen Menschenharns an Kohlehydraten im allgemeinen zwischen den Procentzahlen 0,075—0,35% sich bewegt ⁴⁾.

¹⁾ Ibidem S. 126.

²⁾ Berichte der Naturforschenden Gesellsch. zu Freiburg i. B. Band IV. Heft 5. S. 194.

³⁾ Sitzungsbericht der kaiserl. Akad. d. Wissenschaften 93. II. S. 912.

⁴⁾ v. Udránsky. Berichte der naturforsch. Gesellschaft zu Freiburg, Band IV. Heft 5. S. 200.

Doch wurde bei ganz gesunden Personen nach reichlicheren Mahlzeiten, besonders nach Genuss von viel Obst und Amylaceen trotz der durch die gesteigerte Flüssigkeitsaufnahme bedingten Verdünnung des Harns nicht selten ein Gehalt von 0,35—0,45% gefunden¹⁾. Die Kohlehydratausscheidung zeigt ziemlich regelmässige Schwankungen nach den Tageszeiten (durch die Mahlzeiten hervorgerufen) und ist im jugendlichen Alter geringer als bei älteren Personen²⁾. Luther trennte den gesammten Kohlehydratgehalt in einen gährungsfähigen Teil, der als Traubenzucker anzusehen ist und in einen nicht gährungsfähigen Rest, welcher das thierische Gummi enthält. Die Menge des letzteren beträgt durchschnittlich 0,136%, die des gährungsfähigen Restes im Mittel 0,094%³⁾.

Ueber diese Verhältnisse im Harn von Tieren liegen noch keine Untersuchungen vor. Ich habe deshalb auf eine Anregung des Herrn Prof. Baumann hin versucht, über die Ausscheidung von Kohlehydraten im Harn von Tieren einige Aufklärung zu gewinnen. Es wurden zu diesem Zweck dieselben Methoden benutzt, welche auch zur Ermittlung des Kohlehydratgehalts des normalen Menschenharns angewandt wurden: die schon oben genannten Reactionen mit α -Naphthol und Schwefelsäure und die Baumannsche Methode mit Benzoylchlorid und Natronlauge. Es sind dies die einzigen bis jetzt bekannten Reactionen auf Kohlehydrate im allgemeinen. Huppert nennt dieselben in seinem Lehrbuche deshalb auch „Allgemeine Kohlehydrat-Reactionen⁴⁾.“ Daneben wurden auch noch Versuche mit der von v. Jaksch eingeführten Phenylhydrazinprobe angestellt.

¹⁾ Ibidem.

²⁾ Luther Inaug. Diss. Berlin 1890 S. 43.

³⁾ l. c.

⁴⁾ Huppert Analyse des Harns. 9. Auflage S. 36.

Bevor ich über meine Untersuchungen und deren Resultate berichte, halte ich es für zweckmässig, auf die benutzten Untersuchungsmethoden und ihre Anwendungsweise etwas näher einzugehen und zu zeigen, welche Schlüsse man aus denselben zu ziehen berechtigt ist. Es kann ja von vornherein durchaus nicht erwartet werden, dass Methoden, welche auf so sehr verschiedenen Zersetzungen und Verbindungen der Kohlehydrate beruhen in ihren Resultaten unter einander übereinstimmen werden, namentlich wenn man berücksichtigt, dass es sich stets auch um verschiedene Kohlehydrate im Harn handelt oder handeln kann. Doch unter Berücksichtigung des chemischen Processes, der bei den einzelnen Reactionen vor sich geht, können die Ergebnisse derselben sich immerhin gegenseitig beweisen und ergänzen.

Untersuchungsmethoden.

I. Furfurolreaction.

Dieselbe wurde jeweils zuerst angewandt, um über den Kohlehydratgehalt des Harns sich im allgemeinen zu orientiren. Die Probe wird nach der von Udránsky'schen Vorschrift folgendermassen ausgeführt ¹⁾: „Gibt man zu einem Tropfen einer 0,06% Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15% alkoholischen Lösung von α -Naphthol, so trübt sich zunächst die Flüssigkeit. Giesst man nun vorsichtig unter das Gemisch etwa $\frac{1}{2}$ cem concentrirte Schwefelsäure in das Reagensglas, so stellt sich über dem grünen Ring (hervorgerufen durch den Einfluss der Mineralsäure auf das α -Naphthol) nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Farbenring ein. Vermischt man die Flüssigkeiten durch Umschütteln (bei

¹⁾ Zeitschr. für physiolog. Chemie XII. S. 384.

Abkühlung) zu der Zeit, wo diese Farbenerscheinung eben zu bemerken ist. so resultirt eine karmoisinrote Färbung mit einem Stich ins Blaue. Es sind dann in der Flüssigkeit zugleich die im ersten Kapitel dieser Mittheilungen beschriebenen Spectralerscheinungen wahrzunehmen. Die Reaction ist bei Anwendung einer 0,05% Traubenzuckerlösung schon etwas undeutlich. Nimmt man einen Tropfen einer 0,03% Traubenzuckerlösung zur Reaction, so sind keine charakteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken.“ Ueber die Spectralerscheinungen heisst es an der betreffenden Stelle ¹⁾: „Es zeigt das Reaktionsgemisch, wenn die Flüssigkeit eben eine pfirsichblüthen- bis himbeerrote Farbe angenommen hatte, einen schmalen nicht ganz scharfen Streifen in der Mitte zwischen D und E. Von F aus bis zum Rande war das ganze Spectrum verdunkelt. Ging die Verdunklung der Flüssigkeit weiter, was meistens nach sehr kurzer Zeit eingetreten war, so verschwand der Streifen und gab einer diffusen, bis C reichenden Dämpfung Platz.“

Luther, welcher ausgedehnte Untersuchungen mit dieser Reaction anstellte, nahm einige Abänderungen an derselben vor. Er fand es zweckmässiger, als Lösungsmittel für das α -Naphthol, welches nach der ursprünglichen v. Udránskyschen Angabe ²⁾ mit Thierkohle behandelter absoluter Alkohol war, Chloroform anzuwenden und benutzte zu seinen Versuchen eine 10% Lösung von α -Naphthol in Chloroform. Den Alkohol verliess er desshalb, weil er fand, dass auch der reine absolute Alkohol manchmal Beimengungen enthalten kann, die mit α -Naphthol und Schwefelsäure allein schon eine Furfurolreaction geben. Ich habe diese Modification bei meinen Versuchen beibehalten.

¹⁾ Ibidem S. 364.

²⁾ Zeitschr. für phys. Chemie XII. S. 366.

Beim Gebrauch der Reaction sind noch einige andere Vorsichtsmassregeln zu beachten, auf welche auch Luther schon aufmerksam macht. Ich halte es für nötig, dieselben hier gleichfalls kurz zu besprechen. Die Reaction ist so scharf, dass auch die geringste Verunreinigung einen positiven Ausfall der Probe zur Folge haben kann. Diese Schärfe ist zweifellos ein Nachteil, nicht desshalb, weil accidentelle Verunreinigungen beim Anstellen der Reaction und an den Reagensgläsern nicht sicher zu vermeiden wären — diese werden nach sorgfältiger Reinigung und Auspülen mit destillirtem Wasser völlig rein, auch das bei der Reaction zugesetzte destillierte Wasser ist leicht rein zu erhalten, — sondern weil es schwer hält, α -Naphthol zu bekommen, das nicht an und für sich schon die Reaction gibt und Schwefelsäure, welche nicht durch Bildung eines zu starken grünen Ringes mit dem Naphthol die Furfurolreaction stört. Bei meinen Versuchen benutzte ich ein von Merk bezogenes Präparat von α -Naphthol, das ich selbst noch einmal durch Destillation reinigte. — Von besonderer Wichtigkeit für den Ausfall der Reaction ist die Reinheit der Schwefelsäure. Sehr geringe Beimengungen von Salpetersäure, welche mit keiner andern Reaction mehr nachzuweisen sind, rufen mit dem α -Naphthol schon eine so starke Grünfärbung hervor, dass die Deutlichkeit und Schärfe der Furfurolreaction stark dadurch beeinträchtigt wird. Die meisten reinen Schwefelsäuren des Handels sind deshalb nicht zu gebrauchen. Luther hat zwei besondere Reactionen zur Beurteilung der Brauchbarkeit der Schwefelsäure angegeben¹⁾: 1) „Man fügt zu einem Tropfen der α -Naphthol-lösung $\frac{1}{2}$ cem Wasser, giesst vorsichtig 1 cem Schwefelsäure hinzu und schüttelt alsdann ganz leise etwas, so

¹⁾ Luther Diss. S. 9.

darf an der Grenze der Flüssigkeitsschichten nicht sofort ein grüner Ring entstehen. Wenn ein solcher erst nach mehreren Minuten erkennbar wird, ist die Schwefelsäure, obwohl sie nicht absolut rein ist, doch noch als brauchbar zur Furfurolreaction anzusehen. Wenn man die Probe stark umschüttelt, darf dieselbe nur eine gelbe Färbung zeigen. 2) Man fügt zu 1 cem Schwefelsäure 2 Tropfen der α -Naphthollösung und schüttelt um. Reine Schwefelsäure zeigt nur eine gelbe Färbung. Wenn sofort beim Umschütteln eine nur sehr schwache Grünfärbung entsteht, welche fast momentan einer reinen Gelbfärbung Platz macht, so ist die Schwefelsäure auch noch brauchbar.“

Nach Beschaffung der Reagentien stellt man eine Controllprobe mit denselben an. Man setzt in einem reinen ¹⁾ Reagensglas zu einem Tropfen der α -Naphthollösung $\frac{1}{2}$ cem Wasser mit der Spritzflasche und lässt dann langsam 1 cem Schwefelsäure unter die Mischung fließen, so dass Schichten entstehen. An der Grenze derselben tritt dann ein gelbbrauner Ring auf. (Ein roter Ring ist ein positiver Ausfall der Probe.) Da mit den mir zu Gebote stehenden Reagentien nach dem Umschütteln nicht immer nur eine rein gelbliche Farbe, wie es Luther beobachtete, sondern mitunter auch ein rötlicher Schimmer, besonders nach einigem Stehen in der Mischung auftrat, hielt ich mich bei der Beurteilung der Reaction allein an den Farbenring.

Was die Grenze des Eintritts der Probe betrifft, so nahm v. Udránsky die Reaction, welche eine 0,05% Zuckerlösung gab als Endreaction an ²⁾. Luther verfeinerte

¹⁾ Dasselbe darf auch keine Papierfäserchen oder kleine Baumwollfäden enthalten, die bei der Reinigung zurückgeblieben sind, auch nicht längere Zeit unbedeckt in staubiger Luft gestanden sein. v. Udránsky. Zeitschr. für phys. Chem. XII. S. 388.

²⁾ S. oben S. 9.

mit seinen verbesserten Reagentien dieselbe und beobachtete „bei einer 0,02% Traubenzuckerlösung nach leisem Umschütteln sofort einen, wenn auch schwachen, so doch noch wahrnehmbaren violetten Ring, selbst eine 0,01% Lösung zeigt diese Erscheinung, aber nur sehr schwach.“ Er nahm deshalb den Ausfall der Probe bei einer 0,02% Traubenzuckerlösung als Endreaction an. Ich kann diese Angaben bestätigen, nur muss ich bemerken, dass eine Einübung an Zuckerlösungen auf die Reaction nötig ist, und immerhin die Subjectivität des Beobachters in Betracht kommt.

Beim Anstellen der Probe lässt man mit einem Tropfglas — Luther macht in seiner mehrfach angeführten Arbeit genaue Angaben, wie man am zweckmässigsten dabei verfährt¹⁾ — einen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit auf den Boden des Reagensglases fallen und setzt die Reagentien, wie bei der Controlprobe beschrieben hinzu. Der Wasserzusatz ist wichtig, da zum Zustandekommen der Reaction eine gewisse Erhitzung nöthig ist, und diese erfolgt in genügender Stärke durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf die geringe Menge Wasser. Zur Beobachtung des Farbenringes wird am besten hinter das Reagensglas ein Blatt weisses Papier gehalten.

Sind die oben beschriebenen Bedingungen erfüllt, so ist es möglich, mit ziemlicher Genauigkeit den Kohlehydratgehalt des Harns, auf eine Traubenzuckerlösung bezogen, zu bestimmen. Um dies zu zeigen, stellte ich folgenden Versuch an: Ich nahm von demselben Menschenharn zwei Proben, verdünnte dieselben in verschiedenem Verhältniss mit Wasser und bestimmte den Kohlehydratgehalt jeder der zwei verdünnten Lösungen für sich. Erst am Schlusse wurde das Resultat mit der ursprüng-

¹⁾ Luther, Diss. S. 7.

lichen Verdünnungsgrösse multiplicirt. Ich nahm z. B. von einem Harn 15 cem, füllte dieselben mit Wasser auf 80 auf und bestimmte den Kohlehydratprocentgehalt dieser Lösung. Bei einer Verdünnung auf 210 cem, also auf das 2,625fache Volum constatirte ich die Grenze der Reaction. Auf eine Traubenzuckerlösung bezogen, würde dies einen Zuckergehalt von $0,02 \times 2,625 = 0,0525\%$ bedeuten. Da aber die 80 cem, von denen ich ausging, nur 15 cem Harn enthielten, also eine 5,33 fache Verdünnung desselben darstellten, enthielt der Harn $0,0525 \times 5,33 = 0,289\%$ Kohlehydrate. Von demselben Harn füllte ich 10 cem auf 35 auf und nahm die letztere Flüssigkeit zum Ausgangspunkt. Die Endreaction trat bei einem Wasserzusatz bis zum Gesamtvolum von 145 cem., also bei einer 4,14fachen Verdünnung ein. Dies würde einen Kohlehydratgehalt von $0,02 \times 4,14 = 0,0828\%$ bedeuten. Da aber nur 10 cem des ursprünglichen Harns in den 35 cem. enthalten waren, musste derselbe einen Gehalt von $3,5 \times 0,0828 = 0,289\%$ Kohlehydrate haben.

Nur ganz kurz sollen noch zwei weitere Beispiele angeführt werden:

II. Harn. a). 5 cem auf 15 verdünnt. Endreaction bei 85. Gehalt $= 5,66 \times 0,02 \times 3 = 0,339\%$.

b) 20 cem desselben Harnes auf 115 verdünnt. Endreaction bei 340 cem Gehalt $= 2,956 \times 0,02 \times 5,75 = 0,339\%$.

III. Harn. a) 20 cem auf 90 verdünnt. Endreaction bei 330. Gehalt $= 3,66 \times 0,02 \times 4,5 = 0,329\%$.

b). 5 cem auf 15. Endreaction bei 85 cem Gehalt $= 5,66 \times 0,02 \times 3 = 0,339\%$.

Zu diesen Resultaten muss bemerkt werden, dass dieselben doch nur als annähernde Abschätzungswerte betrachtet werden dürfen. Enthielte der Harn als einziges Kohlehydrat Traubenzucker, so könnte, wie eben



gezeigt, sein Gehalt daran durch diese Reaction mit ziemlicher Genauigkeit bestimmt werden. Der Ausfall der Reaction ist aber von der Menge des Furfurols abhängig, welches durch die Schwefelsäure von den Kohlehydraten abgespalten wird, und diese ist bei verschiedenen Kohlehydraten verschieden¹⁾. Wir vergleichen aber den Harn mit einer reinen Traubenzuckerlösung, resp. betrachten ihn bei der Berechnung als eine solche und begehen so einen Fehler, welcher um so grösser ist, als nach den Untersuchungen Luther's der Traubenzucker im Harn nur den kleineren Teil der Kohlehydrate desselben ausmacht. Für Harn von Tieren ist über dieses Verhältniss noch nichts bekannt.

II. Methode mit Benzoylchlorid und Natronlauge von Baumann.

Die Reaction ist eine sehr scharfe und sichere Probe auf Kohlehydrate. Diese mehrwertigen Alkohole fallen dabei wie alle Alkohole als Ester der Benzoësäure in Form eines in Wasser völlig unlöslichen, weisslichen Niederschlages aus. Was die Schärfe der Reaction anbelangt, so schreibt Baumann²⁾: „1—2 mmgr Traubenzucker in 100 cem Wasser gelöst, geben beim Schütteln mit 2 cem Benzoylchlorid und der entsprechenden Menge von Natronlauge einen sehr bemerkbaren flockigen Niederschlag des benzoylirten Traubenzuckers.“ Und: „Gelingt es, bei dieser Probe andere Stoffe ausser dem Traubenzucker vollkommen auszuschliessen, so ist die-

¹⁾ Luther, Diss. S. 43 berechnet, dass, setzt man den Furfurolwert des Traubenzuckers gleich 1:

Amylum 1,33

Glykogen 1,25

Dextrin 1,33 Furfurol liefert.

²⁾ Bericht d. d. chem. Gesellsch. zu Berlin 19. S. 3219.

selbe geeignet, Spuren dieses Kohlehydrats, welche auf anderem Wege nicht entfernt sicher nachgewiesen werden können, noch erkennen zu lassen.“

Auch eine quantitative Bestimmung der Kohlehydrate wird durch diese Reaction ermöglicht, durch Wägung des auf dem Filter gesammelten und getrockneten Niederschlags. Nur muss dabei beachtet werden, dass, auch bei Anwendung eines grossen Ueberschusses von Benzoylchlorid ein gewisser Bruchteil der Kohlehydrate der Benzoylirung gewöhnlich entgeht. Man erhält daher, wenn die vom ersten Niederschlag getrennte Flüssigkeit zum zweiten Male mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt wird, einen zweiten Niederschlag von Benzoësäure-Estern.

Um die Kohlehydrate aus dem Harn zu gewinnen, empfiehlt Wedenski¹⁾ folgendes Verfahren: Der frische Harn wird mit wenig Natronlauge versetzt und von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt. Zu dem Filtrat werden auf 100 cem des Harns weitere 25—40 cem Natronlauge von 10—12 Procent und zugleich 3—5 cem Benzoylchlorid hinzugefügt. Diese Mischung wird alsbald so lange geschüttelt, bis der Geruch des Benzoylchlorids verschwunden ist. Die Menge der zu verwendenden Natronlauge ist immer abhängig von der Menge des Benzoylchlorids; man hat dabei zu beobachten, dass nach Beendigung der Einwirkung die Reaction der Flüssigkeit stets alkalisch sei.“ Bei meinen Versuchen verfuhr ich ebenso, nur setzte ich in der Regel 10 cem Benzoylchlorid und etwa 100 cem Natronlauge zu. Sehr concentrirte Harne wurden vorher mit destillirtem Wasser verdünnt. Der Filtrerrückstand muss so lange mit Wasser ausgewaschen werden, bis er kein freies Alkali mehr enthält. Meist tritt am Ende des Auswaschens eine schwach

¹⁾ Wedenski, Zeitschr. für phys. Chemie XIII. S. 120.

saure Reaction ein, welche von freier Benzoësäure herrührt.

Dass in diesem Estergemenge reichlich Kohlehydrate enthalten sind, zeigte v. Udránsky auch durch den Nachweis, dass dasselbe beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure grosse Mengen Furfurol liefert¹⁾.

Nach Baumann²⁾ entsteht bei dieser Methode ein Gemenge mehrerer Ester, so dass man aus dem bei der Analyse gefundenen Kohlen- und Wasserstoffgehalt keinen Schluss auf ein bestimmtes Kohlehydrat, welches den Ester bildet, ziehen kann. Doch gelang es W e d e n s k i in seiner oben angeführten Arbeit durch Vergleichung der Analysen von benzoylirtem Glycogen, Dextrin und Traubenzucker mit den aus dem Harn gewonnenen Estergemengen festzustellen, dass die Zusammensetzung der aus dem Menschenharn gewonnenen zwischen den Werten der Benzoësäureester eines Kohlehydrats der Traubenzuckergruppe und derjenigen eines Kohlehydrats der Stärkegruppe liegt.

III. Probe mit Phenylhydrazin und Natriumacetat.

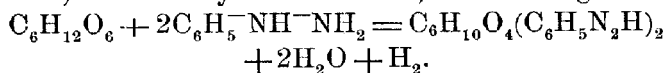
E. Fischer³⁾ fand, dass eine Reihe von Kohlehydraten (Dextrose, Lävulose, Galaktose, Rohrzucker, Milchzucker, Sorbin und Maltose) mit Phenylhydrazin Verbindungen eingehen, welche in Wasser schwer, in Alkohol leicht löslich sind und sich in charakteristischen gelben, feinen Nadeln abscheiden. Fischer nannte diese Körper Osazone. Sie bilden sich am besten beim Erhitzen einer Zuckerlösung mit Phenylhydrazin auf

¹⁾ v. Udransky, Zeitschr. für phys. Chemie XII. S. 379.

²⁾ Bericht d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 19. 1886. S. 3218.

³⁾ Bericht d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 17. 1884. S. 579.

dem Wasserbad. Der chemische Vorgang bei der Einwirkung von Phenylhydrazin auf Traubenzucker in der Wärme, wobei Oxydation eintritt, ist der folgende:



Fischer zeigte schon in seiner ersten Mitteilung, dass die Bildung der Osazone mit Phenylhydrazin eine scharfe Reaction auf Traubenzucker ist, und v. Jaksch¹⁾ empfahl diese Reaction zur Erkennung des Zuckers im Harn. Nach seiner Angabe ist die Probe folgendermassen auszuführen: „In eine Eprouvette, welche 6—8 cem Harn enthält, werden zwei Messerspitzen voll salzsaures Phenylhydrazin und 3 Messerspitzen voll essigsaures Natron gebracht, und wenn sich die zugesetzten Salze beim Erwärmen nicht gelöst hätten, noch etwas Wasser hinzugefügt. Das Gemisch wird in der Eprouvette in kochendes Wasser gesetzt und nach ca. 20—30 Minuten in ein mit kaltem Wasser gefülltes Becherglas gebracht. Falls der Harn nur halbwegs grössere Mengen Zucker enthält, entsteht sofort ein gelber, krystallinischer Niederschlag. Erscheint dieser Niederschlag makroskopisch amorph — was zuweilen der Fall ist — so wird man bei mikroskopischer Untersuchung sofort theils einzelne, theils in Drusen angeordnete, gelbe Nadeln finden. Handelt es sich um sehr geringe Mengen Zucker, so bringt man die Probe in ein Spitzglas und untersucht das Sediment. Waren auch nur Spuren von Zucker vorhanden, so wird man einzelne Phenylglycosazonykrystalle niemals vermissen. Das Vorkommen von kleineren und grösseren gelben Plättchen oder stark lichtbrechenden, braunen Kügelchen ist für Zucker nicht beweisend. Die Probe gibt sehr verlässliche Resultate

¹⁾ Zeitschrift für klin. Med., Bd. 11. 1886. S. 20 und v. Jaksch, Klin. Diagnostik. II. Aufl. S. 286.

mit pathologischen Harnen aller Art und ist sehr empfindlich. Man kann mit ihr noch mit grosser Sicherheit 0,1% Zucker nachweisen.“

Ueber den Wert dieser Reaction sind die Meinungen sehr geteilt. Von guten Resultaten mit derselben berichten Kobrak¹⁾, Pollatschek²⁾ und Rosenfeld³⁾. Der Letzere bezeichnet die Probe als die verlässlichste und schärfste und giebt als Grenze derselben 0,03% Zucker an, während v. Jaksch diese ursprünglich bei 0,1% angenommen hatte. Die Angaben Rosenfelds werden durch Geyer⁴⁾ bestätigt. Hirschl⁴⁾ stellte fest, dass noch 0,003 procentige Zuckerlösungen die Reaction geben. Versetzte er aber Harn mit Zucker, so war erst ein Gehalt von 0,03% nachweisbar, nach seiner Ansicht deshalb, weil die starken amorphen Niederschläge, die sich im Harn neben den Krystallen bilden, dieselben verdecken. Nur in Harnen, die mit Phenylhydrazin behandelt keine Spur von einem Niederschlag gaben, konnte er 0,003% Zucker nachweisen.

Vor einigen Jahren fand Thierfelder⁵⁾ dass Glycuronsäureanhydrid nach E. Fischer mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat behandelt mit dem Phenylhydrazin eine Verbindung eingeht, welche sich in Form von braunen Tröpfchen allmählig zu Boden senkt und eine zähe schwarze Masse darstellt. Nahm er statt der Säure das Kalisalz derselben und zwar auf einen Teil des Salzes 2 Teile salzsaures Phenylhydrazin und 3 Teile Natriumacetat in 20 Teilen Wasser, so traten nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade feine wolkige Trübungen auf, die aus mikroskopischen, gelben Nadeln

¹⁾ Inaug. Dissertation, Breslau 1887.

²⁾ Deutsche Med. Wochenschr., 1888, Nr. 14, S. 354, 451, 479.

³⁾ Wiener Med. Presse, 1889, S. 1688.

⁴⁾ Zeitschr. f. Phys. Chemie, XIV. S. 380.

⁵⁾ Zeitschr. f. Phys. Chemie, XI. S. 395.

bestanden. Die Abscheidung der Krystalle ist nach mehreren Stunden noch nicht beendet, und allmählich geht ihre schöne gelbe Farbe in eine braune über. Der gereinigte und getrocknete Niederschlag stellt eine hellgelbe, leicht zu pulverisirende Masse dar, die bei 114 bis 115° schmilzt.

Geyer¹⁾ wiederholte die Versuche Thierfelders und erhielt bei der Behandlung einer Glycuronsäurelösung mit Phenylhydrazin nach v. Jaksch einen aus gelben, mikroskopischen Nadeln bestehenden Niederschlag, welcher dem Phenylglycosazon so ähnlich war, dass er weder in der Krystallform, noch in den Löslichkeitsverhältnissen irgend einen Unterschied finden konnte. Daraus zieht er den Schluss, dass der als charakteristisch geschilderte Niederschlag für Zucker nicht beweisend ist. Auf Grund der Versuche Flückigers, welcher wahrscheinlich gemacht hatte, dass die reducirende Substanz des normalen Harnes eine Glycuronsäureverbindung ist, suchte Geyer diesen Satz auch auf umgekehrtem Wege zu beweisen, indem er die charakteristischen gelben Nadeln aus Harn zu erhalten suchte, dessen völlige Zuckerfreiheit er vorher erwiesen hatte. Um die Abwesenheit von Zucker sicher nachzuweisen, benutzte er die Gährungsprobe und die Polarisation. Da diese beiden Methoden aber nur bis 0,1% Zucker bestimmt anzeigen, isolirte er denselben nach dem Ludwig-Abeles'schen²⁾ Verfahren. Er untersuchte die Harnen von 14 völlig gesunden Personen. Dieselben reducirten stark und waren optisch theils linksdrehend (10 Fälle), theils optisch inactiv (4 Fälle); direkt konnte bei keinem Gährung erzeugt werden. Die Phenylhydrazinprobe gab in allen Fällen positive

¹⁾ L. c.

²⁾ Wiener med. Presse, XXX, 1889, S. 1688.

Resultate. Der Niederschlag war zwar meist nicht sehr stark, Geyer konnte aber stets zahlreiche charakteristische Krystalle unter dem Mikroskop nachweisen. Die Löslichkeitsverhältnisse waren dieselben wie bei dem Phenylglycosazon. Die mit dem Ludwig-Abeleschen Verfahren erhaltenen Lösungen gaben die Trommer'sche sowie die Phenylhydrazinprobe leicht. 4 derselben zeigten Gährung, 2 waren zweifelhaft, 8 verhielten sich ganz negativ. Mit dem Polarisationsapparat zeigten 4 schwache Rechtsdrehung, die übrigen Linksdrehung. Auf Grund dieser Versuche kommt Geyer zu dem Schluss, dass die Phenylhydrazinprobe auch mit zuckerfreien Harnen positive Resultate geben kann und spricht die Vermutung aus, dass in solchen Fällen das Phenylhydrazin wahrscheinlich mit einer Glycuronsäureverbindung jenen charakteristischen Niederschlag bildet, welcher zwar nicht aus Phenylglycosazon besteht, aber von diesen durch einfache Methoden nicht unterschieden werden kann. Aus diesem Grunde erklärt er den Schluss von Schilder¹⁾ für haltlos, welcher bei 14 normalen Harnen mit der Phenylhydrazinprobe positives Resultat bekam und daraus folgerte, dass der normale Harn immer geringe Mengen Zucker enthält.

Dass jeder normale Harn Kohlehydrate enthält, ist, wie schon gesagt, durch die Benzoylchlorid- und Furfuroreaction erwiesen, dass ein Teil derselben aus Traubenzucker besteht, durch die Untersuchungen Wedenskis²⁾ auch durch Luther³⁾ sehr wahrscheinlich gemacht worden. Auf der anderen Seite sind aber die Versuche Geyers für das Gegenteil durchaus nicht beweisend. Wenn man vom Zuckergehalt des normalen Harnes spricht, so wird gewissermassen stillschweigend

¹⁾ Wiener med. Blätter, 1886, Nr. 13.

²⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie, XIII. S. 126.

³⁾ Diss., S. 42.

angenommen, dass Traubenzucker gemeint sei. Doch wäre es sehr wohl möglich, dass der Harn andere Zuckerarten enthielte, welche vielleicht nicht gährungsfähig und linksdrehend sind. Ueberhaupt ist die Drehung kein absolutes Mass, da sie durch entgegengesetzt drehende Substanzen vermindert oder aufgehoben werden kann. Auch eine negative Gährungsprobe beweist die Abwesenheit von Zucker nicht, weil, wie eben gesagt, nicht jeder Zucker die Eigenschaft hat, mit Hefe in Alkohol und Kohlensäure zu zerfallen. Aber nicht einmal für die Abwesenheit geringer Mengen von Traubenzucker ist eine negative Gährungsprobe beweisend, da 1 Volum CO_2 sich in einem Volum Wasser (Harn) löst. Gewöhnlich werden mindestens 6—8 ccm Harn zu einer Gährungsprobe angestellt, von welchen 6—8 ccm CO_2 absorbiert werden können. Es ist also möglich, dass geringe Mengen von Traubenzucker im Harn vorhanden sind und vergähren, ohne dass eine Gasentwicklung sichtbar wird. Aus diesen Gründen könnte vielleicht die Schlussfolgerung Schilders doch zu Recht bestehen.

Hirschl¹⁾ stellte ebenfalls Versuche mit glycuronsaurem Natrium und Phenylhydrazin nach v. Jaksch an. Wurde die Probe $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade erhitzt, so stellte sich makroskopisch erst nach mehrstündigem Stehen ein wolkiger Niederschlag von hellzitronengelber Farbe ein. Mikroskopisch fand er zahlreiche grosse und kleine Schollen, zahlreiche hellgelbe Nadeln, die in radärer Anordnung sich befanden. Sie unterschieden sich von Phenylglycosazon dadurch, dass sie dicker, plumper waren als jene. Die abfiltrirten und getrockneten Nadeln zeigten den Schmelzpunkt 110—114°.

¹⁾ Zeitschr. f. Phys. Chemie, XIV. S. 382.

Blieb die Probe $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem kochenden Wasserbad, so bekam er nach mehrstündigem Stehen einen braungelben, amorphen Niederschlag, der mikroskopisch gelbe und gelbbraune, ganz unregelmässig gestaltete Schollen zeigte. Daneben enthielt er amorphe Körnchen und spärliche kleine stechapfelförmige Gebilde. Nadeln oder andere Krystalle fanden sich im mikroskopischen Bilde nicht vor. Der Schmelzpunkt dieses Niederschlags, der ebenfalls wie der erstere in Alkohol löslich, in Wasser unlöslich war, lag bei $107-108^{\circ}$ C. Liess er die Probe 1 Stunde auf dem Wasserbad, so blieb der mikroskopische Befund der gleiche. Nur der Schmelzpunkt des Niederschlags rückte auf 150° . Auf Grund dieser Versuche hält Hirschl eine Verwechslung des Phenylglycosazons mit dem Glycuronsäurephenylhydrazin bei längerem Verweilen der Probe auf dem Wasserbade für unmöglich, abgesehen von dem verschiedenen Schmelzpunkt auch deshalb, „weil die Nadeln der Glycuronsäureverbindung nie so regelmässig gestaltet, nie in so schöner, regelmässiger, radiärer Anordnung sich befinden, wie die Nadeln des Phenylglycosazons.“

Er untersuchte 50 Harnen nach v. Jaksch, nur mit der Abänderung, dass die Proben eine ganze Stunde auf dem Wasserbad verblieben. In 45 Fällen erhielt er einen amorphen Niederschlag und fand in 40 Fällen kleinere und grössere Schollen von gelber und gelbbrauner Farbe oder amorphe kleine Körnchen. 3 mal traten stark lichtbrechende Kügelchen hinzu, 2 mal waren neben den Schollen und Körnchen spärliche, kleine, unregelmässig gebildete, stechapfelförmige Körperchen zu sehen. 1 Fall bot keinen Niederschlag. 4 Fälle (3 Diabetes, 1 Haemorrhagia cerebri cum glycosuria) lieferten einen gelben, makroskopisch krystallinischen Niederschlag, der mikroskopisch grosse, gelbe Nadeln

von regelmässiger Begrenzung in schönster Anordnung zeigte. Daneben befanden sich kleinere Nadeln in Stechapfelform geordnet, doch waren auch diese kleinen Nadeln ziemlich lang und regelmässig gestaltet, sodass Hirschl sie für sehr leicht von denen der Glyceuronsäureverbindung unterscheidbar hält. Der Niederschlag war in Alkohol löslich, in Wasser unlöslich, der Schmelzpunkt lag bei 205° . Die Gährungsprobe gab nur in diesen 4 Fällen positives Resultat. Daraus schliesst Hirschl „dass die Phenylhydrazinprobe nur mit jenen Harnen ein positives Resultat zu geben vermag, die wirklich Zucker enthalten.“

Auch ich stellte die Phenylhydrazinprobe mit 16 Harnen von gesunden, jungen Männern (Praktikanten des Laboratoriums) genau nach der Angabe Hirschls an: 10 cem Harn wurden in ein Reagensglas gebracht und jeweils $\frac{1}{2}$ gr. salzsaures Phenylhydrazin und 1 gr. Natriumacetat zugesetzt. $\frac{1}{2}$ gr. Phenylhydrazin deshalb, weil ich annahm, dass dies den zwei Messerspitzen, welche Hirschl zugibt, wohl entsprechen würde und alle Harne genau gleich behandeln wollte. Darauf wurde die Probe eine volle Stunde in das kochende Wasserbad gebracht, bis zum nächsten Tag stehen gelassen und dann mikroskopisch untersucht. In allen Fällen schied sich ein Niederschlag ab, welcher meistens in einer Höhe von 1—2 mm den Boden des Glases bedeckte, öfters auch reichlicher war und nur in etwa 1 — Fällen eine geringere Stärke zeigte. Die darüber stehende Flüssigkeit war immer bis zur völligen Undurchsichtigkeit trübe und schwankte in ihrer Farbe zwischen schwefelgelb und hellbraun.

Der Niederschlag wurde jeweils in der Weise untersucht, dass die Flüssigkeit abgegossen und dann ein Tropfen des Rückstandes mit dem Glasstabe auf den

Objectträger gebracht wurde. Bei allen Präparaten wurde die gleiche Vergrößerung, 360 linear, angewandt.

In allen Proben fanden sich neben amorphen Gebilden schwefelgelbe Krystalle oder Nadeln und zwar durchschnittlich in solcher Anzahl, dass dieselben in fast keinem Gesichtsfelde fehlten. Oefters traten die amorphen Körperchen an Menge stark zurück und das Gesichtsfeld enthielt fast nur die charakteristischen krystallinischen Gebilde. Die Form und Anordnung derselben war fast in jeder Probe eine andere, doch zeigte im allgemeinen wieder jeder Harn einen gewissen vorherrschenden Krystallisationstypus, so dass die einzelnen Gesichtsfelder sich sehr ähnlich sahen. In dem einen Falle z. B. waren die Nadeln sehr fein und schlank, meist in Garben- oder Sternform angeordnet, daneben lagen zahlreiche einzelne Nadeln; in einem andern wieder fand ich dieselben etwas dicker, fast nur zu Stern- oder Büschelform vereinigt und einzelne Nadeln sehr selten. Immer aber zeigten die krystallinischen Gebilde übereinstimmend eine helle, schwefelgelbe Farbe. Was die Grösse der Nadeln anbelangt, so war dieselbe in den verschiedenen Proben, aber auch in jedem einzelnen Falle sehr verschieden: bisweilen bestanden die Sterne aus Strahlen, die nahezu gleich lang waren, im anderen überragten einzelne die übrigen um ein Bedeutendes. Die regelmässige Gestaltung der Nadeln und die radiäre Anordnung, auf welche Hirschl zur Unterscheidung von den Krystallen des Glycuronsäure-Phenylhydrazins, so grosses Gewicht legt¹⁾, vermisste ich sehr selten. Die amorphen und runden Körperchen fanden sich mehr oder weniger reichlich in jedem Präparate und zeigten eine gelbe, braune oder schwarzbraune Farbe.

Von den meisten Proben fertigte ich Zeichnungen

¹⁾ S. oben S. 22.

an, aber nicht in der Weise, dass gerade die schönsten Krystalle herausgegriffen wurden, sondern ich suchte jeweils ein mir für die betreffende Probe charakteristisch erscheinendes Gesichtsfeld in seiner Gesamtheit abzubilden. Von den vielen seien nur drei mitgeteilt, welche als Beispiele für alle übrigen gelten können:



Einige Male wurde versucht, durch vorheriges Ausfällen des Harns mit dem gleichen Volum neutralen Bleiacetats, Zersetzung des Filtrats durch Schwefelwasserstoff und Austreiben des überschüssigen Schwefelwasserstoffs durch Einleiten eines Kohlensäurestroms die Krystallisation zu verbessern. Es scheint zwar dabei ein geringerer Grad von Verharzung einzutreten, die so behandelten Proben zeigen immer eine viel hellere Färbung; doch bilden sich nicht mehr Krystalle, und dieselben werden fadenartig und eher undeutlicher.

Warum Hirschl in 45 normalen Harnen nur zweimal „kleine stechapfelförmige Körperchen“ sah, kann ich mir vermutungsweise nur so erklären, dass er vielleicht mit einer äusserst schwachen Vergrösserung untersucht hat.

Versuche mit Tierharn.

Dieselben beschränkten sich auf den Harn des Hundes, des Kaninchens und Pferdes. In einer grösseren Anzahl derselben wurden, soweit ihre Menge ausreichte, jeweils alle drei Methoden neben einander ausgeführt.

I. Hund.

Der Hundeharn rührt von drei verschiedenen Tieren her, deren Futter in gleicher Weise in Hundekuchen bestand. Selbstverständlich wurde eine Verunreinigung des Harns mit dem Futter sorgfältig vermieden.

Alle Harne gaben Furfurohreaction, und zwar fiel beim Anstellen der Probe mit einem Tropfen des unverdünnten Harns die Stärke der Reaction auf: Nach leisem Schütteln bildete sich sofort ein sehr breiter und intensiv gefärbter rot-violetter Ring. Nach starkem Umschütteln nahm das Gemisch eine sehr dunkelviolette Färbung an, welche in manchen Fällen nach kurzem Stehen eine solche Dichtigkeit erreichte, dass die Probe fast ganz undurchsichtig wurde.

Bei der quantitativen Bestimmung lieferten die Harne so viel Furfurol wie eine Traubenzuckerlösung von:

1. Hund.			2. Hund.			3. Hund.		
Furfurolwert. Spez.-Gew.			Furfurolwert. Spez.-Gew.			Furfurolwert. Spez.-Gew.		
1.	0,88%		9.	0,94%	1026	14.	0,92%	1048
2.	0,92%		10.	0,72%	1024	15.	1,12%	1050
3.	0,90%		11.	0,60%	1023	16.	1,32%	1049
4.	0,84%		12.	0,52%	1027			
5.	1,06%	1033	13.	0,48%	1015			
6.	1,28%	1045						
7.	1,46%	1050						
8.	0,96%	1033						

Wir erhalten also im Verhältniss zum Menschenharn sehr hohe Zahlen und sehen zugleich, dass die spezifisch schwereren Harne im allgemeinen einen höheren Furfurolwert aufweisen.

Da wir bei dem fleischfressenden Tiere eher eine geringe Kohlehydrat-Ausscheidung erwarteten, glaubten wir anfangs, als allein mit der Furfurolreaction untersucht wurde, diese hohen Werte mit der Annahme erklären zu können, ein Kohlehydrat vor uns zu haben, welches viel Furfurol abspaltet und vielleicht der Arabinose nahe stehen könnte. Die Parallelversuche mit der Benzoylchloridmethode zeigten auch, dass die Menge der aus dem Hundeharn erhaltenen Benzoësäureester zwar grösser ist als die aus Kaninchen- und Pferdeharn gewonnenen, welche viel geringere Furfurolwerte zeigen, aber die aus dem Menschenharn erhaltenen Mengen kaum erreicht, obwohl bei dem letzteren die Furfurolreaction bedeutend geringere Werte ergibt als im Hundeharn. So lieferten je 100 cem der Harne:

5. 0,511	9. 0,585	14. 0,6375
6. 1,2155	11. 0,4605	15. 0,7375
7. 0,856		16. 0,9405

gr. Benzoësäureester. Wedenski¹⁾ fand beim Menschen auf je 100 cem Harn berechnet Werte zwischen 0,138 und 1,309 gr.

Bei der ersten Benzoylirung eines Hundeharns fielen neben dem amorphen Niederschlag der Ester zahlreiche weisslich-gelbe, helle Krystalle aus. Dieselben wurden durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in welchem sie sich völlig lösten, gereinigt und zeigten einen constanten Schmelzpunkt von 128°. Wir hatten es also mit Benzamid zu thun, welches durch Verbindung eines Theils der eingebrachten Benzoësäure mit dem im Hunde-

¹⁾ Zeitschr. für phys. Chemie 13. 1889. S. 124.

harn in reichlicher Menge enthaltenen Ammoniak entstanden war. Um dies zu vermeiden, wurde der Harn jeweils vor der Benzoylirung nach Ausfällung der Phosphate mit dem gleichen bis doppelten Volum destillirten Wassers verdünnt und von da ab diese Erscheinung auch nicht mehr beobachtet.

Die aus dem Harn gewonnenen Benzoësäureester zeigten schon in der geringsten Menge eine sehr intensive Furfurolreaction. Auch die von den Estern abfiltrirte Flüssigkeit gab diese noch mehr oder weniger deutlich gemäss der oben¹⁾ gemachten Bemerkung, dass ein Bruchtheil der Kohlehydrate der Benzoylirung gewöhnlich entgeht.

In zwei Fällen (Nr. 5 u. 6) wurde der Harn nach Klärung mit Bleiacetat mit dem Polarisationsapparat untersucht und bei Nr. 5 eine kaum wahrnehmbare Drehung nach links, bei Nr. 6 eine solche von $\frac{1}{4}^{\circ}$ nach derselben Richtung beobachtet. — Eine Controllprobe mit der Furfurolreaction vor und nach der Bleifällung zeigte, dass die furfurolliefernden Substanzen durch diese Behandlung sich nicht verminderten.

Auch die Phenylhydrazinprobe wurde bei einer grösseren Anzahl der Harne ausgeführt. Es fiel immer ein reichlicher, dunkelbrauner amorpher Niederschlag aus, die darüber stehende Flüssigkeit war stark braun gefärbt und völlig undurchsichtig. In keinem Falle fehlten im Niederschlag die hellgelben Krystalle vollständig. Durchschnittlich waren dieselben etwas dicker als im Menschenharn und fanden sich selten einzeln, meist zu stern-, garben- oder büschelförmigen Körperchen vereinigt. Im grossen und ganzen aber zeigten die Krystalle keine so schöne Ausbildung wie beim Menschenharn und traten nicht selten gegenüber den

¹⁾ S. 15.

sehr reichlichen amorphen und runden Gebilden in den Hintergrund. Die Versuche, durch vorheriges Ausfällen des Harnes mit Bleiacetat besser ausgebildete Krystalle zu erhalten, hatten nur in zwei Fällen einen deutlichen Erfolg: dieselben wurden länger und schlanker und die amorphen Verunreinigungen vermindert. In allen übrigen Fällen aber trat keine deutliche Verbesserung ein.

Mehrere Male wurden grössere Mengen der Verbindung dargestellt und die Substanz teils durch UmkrySTALLISIREN aus Wasser, teils durch LöSEN in wenig warmem Alkohol und Ausfällen mit Wasser soweit zu reinigen gesucht, um eine Schmelzpunktbestimmung ausführen zu können. Die Versuche misslangen: bei etwa 160° färbte sich die Substanz stark dunkel und sinterte zusammen, ohne dass ein Schmelzen beobachtet werden konnte.

Dass die Substanz des Harnes, welche die Phenylhydrazinprobe liefert, dieselbe ist, welche bei der Benzoylirung ausgefällt wird, zeigte ein Versuch, bei welchem das Filtrat von dem Niederschlage der Benzoylverbindungen der Phenylhydrazinprobe unterworfen wurde. In diesem Falle trat keine Spur einer Reaction ein.

II. Kaninchen.

Die Harne zweier Kaninchen, welche mit Kohl gefüttert wurden, ergaben unverdünnt immer ausgesprochene Furfurolreaction und bei der quantitativen Bestimmung auf eine Zuckerlösung bezogen, folgende Werte:

I.	II.
1. 0,3°/o.	6. 0,32°/o.
2. 0,28°/o.	7. 0,40°/o.
3. 0,16°/o.	8. 0,26°/o.
4. 0,18°/o.	9. 0,50°/o.
5. 0,32°/o.	10. 0,34°/o.

Das spezifische Gewicht der Harnе hielt sich constant zwischen 1008 und 1010.

Bei der Benzoylirung — die Methode wurde genau mit denselben Quantitäten des Harns und der Reagentien wie beim Hunde ausgeführt — wurden den mit der Furfurolreaction erhaltenen Zahlen entsprechend geringe Mengen erhalten. So lieferten die Harnе

1. 0,110
2. 0,1465
6. 0,1845
7. 0,148
8. 0,0805
9. 0,1375 gr Benzoesäureester.

Harn Nr. 3 wurde ebenfalls benzoylirt. Es fiel aber nur ein so sehr geringer Niederschlag dabei aus, dass von der Wägung desselben abgesehen wurde. Auch diese Ester gaben alle die Furfurolreaction sehr stark.

Harn Nr. 6 wurde nach Klärung mit Bleiacetat polarimetrisch untersucht und zeigte eine ganz geringe Linksdrehung.

Die Phenylhydrazinprobe, welche bei jedem der vorliegenden Harnе ausgeführt wurde, lieferte meist einen nur sehr spärlichen dunkelbraunen, amorphen Niederschlag, der den Boden des Reagensglases nur zum Teil bedeckte. Die Flüssigkeit war trübe und zeigte ziemlich regelmässig eine hellbraungelbe Färbung. Beim Anstellen der Probe mit unverdünntem Harn bestand der Niederschlag jeweils nur aus amorphen braunen und gelblichen Körperchen, welche oft aus kleineren Körnchen zusammengesetzt waren. Wurde der Harn vorher mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt, so fanden sich neben den amorphen Gebilden öfters gelbe Sternchen, welche aber meist sehr klein waren und auch sonst unregelmässige Bildung zeigten. Eine vorher-

gehende Behandlung mit Bleiacetat ¹⁾ auf die oben ²⁾ beschriebene Weise ergab eine sehr auffallende Veränderung des Resultats: Beim Herausnehmen dieser Proben aus dem Wasserbad waren dieselben entweder völlig klar hellgelb oder opalescirend, und beim Erkalten fiel in allen Fällen ein reichlicher flockiger Niederschlag aus, der sich schon makroskopisch als krystallinisch erwies und nach dem Absitzenlassen durchschnittlich eine Höhe von 1 cm vom Boden des Reagensglases erreichte. Die Farbe desselben war ein helleres oder dunkleres orangegelb, die darüber stehende Flüssigkeit grünlichgelb und ausnahmslos durchsichtig klar.

Die mikroskopische Untersuchung des Niederschlages ergab in allen Fällen, dass derselbe aus langen, schlanken, hellgelben Nadeln bestand, welche grosse Sterne oder Garben bildeten, häufig aber auch einzeln lagen. Die amorphen Gebilde traten stark zurück und waren meist runde, braune, glänzende Körperchen. Siehe Fig. 1 u. 2.

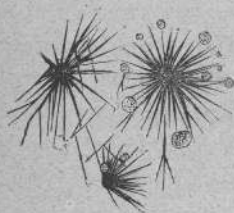


Fig. 1

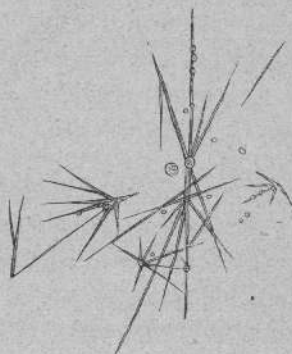


Fig. 2

¹⁾ Wurde von dem einfachen Harn 10 cem mit 0,5 gr Phenylhydrazin und 1 gr Natriumacetat angestellt, so wurden von diesem, der durch die Fällung mit Bleiacetat auf das doppelte Volum verdünnt war, jeweils 20 cem zu der gleichen Menge des Reagens genommen.

²⁾ Seite 25.

Die krystallinische Verbindung wurde in grösseren Mengen dargestellt, aus Wasser umkrystallisirt, ausgepresst und über Schwefelsäure getrocknet. Eine Schmelzpunktbestimmung mit dem braungelben, blätterigen Körper ergab von 175° an starke Braunfärbung, und bei 192° — 194° schmolz derselbe unter Gasentwicklung. Dieser Schmelzpunkt liegt weit über dem des Glycuronsäurephenylhydrazins und kommt dem des Phenylglycosazons (205°) schon sehr nahe. Es dürfte deshalb kaum ein Zweifel bestehen, dass wir hier eine Kohlehydratverbindung des Phenylhydrazins (Osazon) vor uns haben. Vielleicht lässt auch die so auffallende Verschiedenheit im Ausfall der Reaction gegenüber den Ergebnissen bei Mensch und Hund die Vermutung zu, dass der Kaninchenharn ein anderes Kohlehydrat (oder auch relativ mehr Traubenzucker) enthält.

III. Pferd.

Es wurden 3 Portionen Harn untersucht, die von verschiedenen Tieren stammten und mit jeder alle 3 Methoden neben einander ausgeführt.

Beim Anstellen der Furfurolreaction mit dem unverdünnten Harn trat jeweils ein schmutzig gelbbrauner Streifen über einer stark grünen Zone (von der im Pferdeharn reichlicher enthaltenen Salpetersäure herrührend) auf und nach dem Umschütteln nahm die Mischung eine schmutzig grauviolette Färbung an. Bei succesiver Verdünnung traten aber die störenden Färbungen mehr und mehr zurück und die eigentliche Furfurolreaction wurde deutlicher. Diese ergab bei den 3 Harnen, auf Traubenzucker bezogen die Werte:

- | | | | |
|----|-------|------|------------|
| 1. | 0.08% | 1005 | Spez. Gew. |
| 2. | 0.64% | 1026 | " |
| 2. | 0.42% | 1020 | " |

Bei der Benzoylirung entstand beim ersten Harn ein so

geringer staubartiger Niederschlag, dass von einer Wägung desselben Abstand genommen wurde. Der 2. Harn ergab 0,522 gr., der 3. 0,2125 gr. Benzoësäureester.

Wir sehen also, dass hier, wie auch bei den andern Tieren die mit der Benzoylchloridmethode erhaltenen Mengen durchaus nicht mit den Resultaten der Furfurolreaction immer in einem bestimmten Verhältniss stehen, was, wie oben auseinandergesetzt ist auch durchaus nicht erwartet werden kann, aber dass doch in denjenigen Fällen, bei denen die Furfurolreaction hohe Werte zeigt, im allgemeinen auch eine grössere Menge Benzoësäureester gewonnen werden.

Bei der Untersuchung der Ester zeigte sich, dass die aus dem Pferdeharn gewonnenen kaum wahrnehmbare, die aus dem Hundeharn etwas deutlichere Spuren von Stickstoff enthielten. Die Ester aus dem Kaninchenharn erwiesen sich als völlig stickstofffrei.

Beim Veraschen zeigten die Ester einen allerdings sehr geringen Rückstand von anorganischen Beimengungen.

Die Phenylhydrazinreaction gab beim ersten Harn mit und ohne Bleibehandlung einen äusserst geringen Niederschlag, der im ersteren Falle spärliche, gelbbraun-gefärbte, stechapfelförmige Gebilde enthielt, im zweiten völlig amorph war. Bei den beiden anderen Harnen wurde, wenn dieselben einfach zur Probe benutzt wurden über einer gelbbraunen, völlig trüben Flüssigkeit ein ganz geringer, dunkelbrauner, amorpher Niederschlag erhalten, der sich mikroskopisch aus gelben bis braunen Schollen und glänzenden, kleinen Kügelchen zusammengesetzt, zeigte. Nach der Bleibehandlung fiel auch ein ziemlich geringer, flockiger, aber schon makroskopisch als krystallinisch erkennbarer Niederschlag aus der klaren rötlich gelben Flüssigkeit aus. Derselbe erwies sich bei der mikroskopischen Untersuchung aus gelb-

braunen, äusserst feinen, oft fadenförmigen, mittellangen bis kurzen Nadeln zusammengesetzt, welche Sterne und Büschel bildeten und sich häufig verzweigten. Dazwischen lagen braune glänzende Kügelchen und Schollen.

Also auch hier wurde durch die Bleibehandlung eine bedeutende Verbesserung der Krystallisation erreicht.

Harn Nr. 2 zeigte nach vorhergegangener Klärung bei der polarimetrischen Untersuchung eine Linksdrehung von 22 Minuten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen können kurz in folgenden Sätzen zusammengefasst werden:

1. Der physiologische Hunde-, Kaninchen- und Pferdeharn enthält eine gewisse Menge von Kohlehydraten, und zwar am meisten der Hund, weniger das Pferd, noch weniger das Kaninchen.

2. Die mit der Furfurolreaction erhaltenen Werte werden im allgemeinen durch die Benzoylchloridmethode bestätigt.

3. Die Phenylhydrazinprobe ergibt beim Menschen immer ein positives Resultat, ebenso beim Hund. Beim Kaninchen und Pferd sicher nur nach vorheriger Bleifällung. Aus dem Kaninchenharn werden mit dieser Methode besonders gut ausgebildete Krystalle gewonnen.

4. Die Harne aller 3 Tiere zeigen eine geringe Linksdrehung.

Zum Schlusse bleibt mir noch die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Baumann für die Anregung zu dieser Arbeit, die freundliche Unterstützung während derselben und die Durchsicht meinen herzlichsten Dank auszusprechen.



11634

2000