

zeigt darin, daß der Aldehyd mit zwei CH-Gruppen so reagiert, daß Di-pyrryl-aryl-methanderivate entstehen.

Denn „nur solche Pyrrolderivate sind der Kondensation mit Aldehyden zugänglich, die mindestens ein an Kohlenwasserstoff gebundenes Kernwasserstoffatom besitzen, einerlei ob am Ringstickstoff Wasserstoff oder Alkyl gebunden ist. Dagegen sind nicht kondensierbar alle Pyrrolderivate mit vier an Ringkohlenstoff gebundenen Substituenten, auch wenn die Imidogruppe intakt ist.“ Von Pyrrolderivaten benützte Feist zur Kondensation den 2 . 5 Dimethylpyrrol 3 carbonsäureester, den 2 . 4 Dimethylpyrrol 3 carbonsäureester, den 1 Phenyl, 2 . 5 dimethylpyrrol. 3 carbonsäureester, das 2 . 4 Dimethylpyrrol. Als aromatische Aldehyde kamen bei ihm zur Anwendung Benzaldehyd, p-Nitrobenzaldehyd, m-Nitrobenzaldehyd, Vanillin, Zimtaldehyd, Salicylaldehyd Piperonal und Anisaldehyd. Die erhaltenen Produkte sind „hübsch kristallisierte, hochschmelzende, farblose, bei Anwendung von p. Nitroaldehyd gelbe Verbindungen, die nicht alle die Fichten-spahnreaktion deutlich und leicht liefern.“ Feist erhielt auch intensiv gefärbte Verbindungen z. B. rote, grüne. Doch ließen gerade diese sich nicht in kristallisierter Form erhalten und daher beschäftigte er sich mit ihnen nicht weiter. Die beiden Komponenten ließ er in der Regel so aufeinander einwirken, daß er sie beide in gepulvertem Zustande vermischt, im Oelbade zum Schmelzen bringt und ihnen dann durch Kaliumbisulfat Wasser entzieht. Oft reagieren sie aber auch schon in der Kälte. So z. B. wirken Dimethylpyrrol und Benzaldehyd resp. Nitrobenzaldehyd schon beim Mischen in der Kälte heftig aufeinander ein unter Bildung eines roten Farbstoffes. Also aus einem aromatischen Aldehyd und einem Pyrrolderivat bilden sich manchmal schon in der Kälte allein beim Vermischen Kondensationsprodukte, die intensiv rot gefärbt sein können.

Bevor ich die Feistsche Arbeit kennen gelernt, hatte ich mir die Aufgabe gestellt, zu zeigen, daß die Imidgruppe nicht in Reaktion mit dem Benzaldehyd tritt. Als geeignetes Pyrrolderivat stellte ich mir die $\alpha\alpha$ Dimethylpyrrolessigsäure her. Aus dem käuflichen Diacetbernsteinsäureäthylester wurde in Anlehnung an die Arbeit von Knorr (37) durch 30% Natronlauge des Acetonylaceton dargestellt. Dieses 1 . 4 Diketon lagert sich mit Ammoniak oder einem primären Amin glatt zum Pyrrolring um (PaaI-Strasser-Knorr'sche Pyrrolsynthese). Um nun ein am Stickstoff substituiertes Pyrrol zu erhalten, wählte ich statt Ammoniak die Amidoessigsäure, weil ich mich hierbei an Angaben von

E. Fischer (20) halten konnte. Die Bildung des Pyrrolringes trat auch prompt ein. Aus dem zuerst erhaltenen Produkt ließ sich die Säure leicht nach Vorschrift gewinnen. Wie vorauszusehen, gab sie die Aldehydreaktion in intensiver Weise. Sie fiel auch rot aus; spektroskopisch aber gab sie einen anderen Befund als die Urobilinogenreaktion, nämlich einen Streifen, der zwischen D und E beginnt und bis F reicht neben einem dunkleren, der die zweite Hälfte des Bandes zwischen F und G einnimmt.

Wenn wir nun den p-Dimethylamidobenzaldehyd mit dem Urobilinogen sich auch, analog den Feistschen Reaktionen, mit 2 CH-Gruppen kondensieren lassen, stimmt diese Annahme mit den übrigen Beobachtungen über die Ehrlich'sche Reaktion überein?

Nach Steinert (65) liefert der Aldehyd in Eisessig gelöst mit Phenyl-methylpyrazolon einen aus Aceton gut kristallisierten roten Körper (S.P. 200°), der Wolle in essigsaurer Lösung gelb färbt. Hier reagiert gemäß dem Ergebnis der Analyse 1 Molekül Aldehyd mit 1 Molekül Phenyl-methylpyrazolon, d. h. der Aldehyd lagert sich an die Methylengruppe an unter Wasserabspaltung. Mit Antipyrin oder Phenyl-dimethylpyrazolon liefert der Aldehyd nach Clemens (9) eine schwächere rotgelbe Färbung. Ein analysereines Produkt ist hier nicht erhalten.

Andere dem Pyrrol nahestehende Körper mit dem Aldehyd zu kondensieren, versuchte Neubauer (48); er kochte Leim mit Salzsäure. Da hierbei α Pyrrolidincarbonsäure in erheblicher Menge entsteht und die erhaltene Flüssigkeit mit dem Aldehyd keine Färbung gibt, so schloß er daraus, daß die Pyrrolidincarbonsäure nicht mit ihm reagiert. Ich konnte ein etwas reineres Produkt zur Ehrlich'schen Reaktion verwenden; die bei der nach der Fischerschen Estermethode vorgenommenen Hydrolyse von Bluteiweiß erhaltene Fraktion,* in der hauptsächlich die Ester von Leucin und der α Pyrrolidincarbonsäure enthalten sind, wurde mit Wasser sechs Stunden lang am Rückflußkühler gekocht und die Ester dadurch verseift. Dabei fällt das schwer lösliche Leucin zum größten Teil aus, im Filtrat ist mit immer noch erheblichen Mengen Leucin hauptsächlich die α Pyrrolidincarbonsäure enthalten. Das Filtrat gibt aber beim Kochen mit dem Ehrlich'schen Aldehyd keine Rotfärbung.

* Die Eiweißspaltung führte ich zusammen mit Dr. phil. K. Fromherz aus.

Dies sind die Pyrrolderivate, deren Verhalten gegen den p-Dimethylamidobenzaldehyd bis jetzt untersucht ist. Aus den Beobachtungen können wir nicht entscheiden, in welcher Weise die Reaktion beim Urobilinogen vor sich gehen wird. Denn wir haben gesehen, daß Aldehyd und Pyrrol sich im Verhältnis 1 : 1 wie 1 : 2 ihrer Moleküle vereinigen können, daß die entstandenen Monoketole sowie die Diketole gefärbte Verbindungen darstellen, daß letztere aber auch wieder zu Farbstoffen oxydiert werden müssen. Bei der Urobilinreaktion konnte ich mich nicht überzeugen, daß Zusatz oxydierender Mittel das Auftreten der Rotfärbung beschleunige oder sie verstärke. Aber solange wir das Urobilinogen nicht in Händen haben oder ein analysereines Produkt des Farbstoffes, können wir über die Art des Farbstoffes auch nichts aussagen.

An Versuchen den p Dimethylamidobenzaldehyd durch andere Aldehyde zu ersetzen, hat es nicht gefehlt. Feist (15) verwandte, wie schon oben erwähnt, zur Kondensation mit Pyrrolen Benzaldehyd, p- und m-Nitrobenzaldehyd, Vanillin, Zimtaldehyd, Salicylaldehyd, Piperonal und Anisaldehyd. Neubauer (48) ersetzte den Ehrlichschen Aldehyd bei seinen Reaktionen, die er mit durch Säure hydrolysiertem Eiweiß anstellte, außer durch p-Nitrobenzaldehyd, Zimt- und Salicylaldehyd und Vanillin noch durch Amidobenzaldehyd, Gentisinaldehyd und Hadromal. Hadromal, der im Holz praeformierte aromatische Aldehyd, gibt mit Eiweiß eine Rotfärbung. Nach den neueren Untersuchungen von Grafe (26) besteht diese Substanz aus Vanillin und Methylfurfurol. Demnach bietet sich für die Erklärung der Reaktion keine Schwierigkeit mehr. Denn Vanillin gibt eine intensive Rotfärbung mit dem hydrolysierten Eiweiß, Furfurol nach Rohde eine gelbe. Für das Rot der Hadromal-Reaktion gibt Neubauer kein Charakteristikum, wir dürfen also annehmen, daß es eine Mischung der Farbe von Vanillin und Methylfurfurol darstellt. Die anderen Aldehyde geben mit Eiweiß verschiedene Farben, teils rot, teils grün oder blau. Sie sind aber mehr oder weniger unrein und alle nicht von der Intensität, wie sie die mit p-Dimethylamidobenzaldehyd dargestellten Kondensationsprodukte zeigen.

Im Eiweißmolekül ist als Träger der Reaktion der vorgebildete Komplex der Skatolaminoessigsäure (Neubauer, Rohde) resp. des Indolalanins anzusehen. Die leichter zu gewinnenden Aminosäuren, wie Glykokoll, Alanin, Asparagin, Leucin, Histidin geben nach Neubauer-Rohde sicher, Serin, Lysin, Arginin, Cystin und Aminovaleriansäure höchstwahrscheinlich mit dem Ehrlichschen Aldehyd keine Reaktion. Ebenfalls keine Färbung entsteht mit Phenylalanin und Tyrosin. Das Phenylalaninpräparat, das ich untersuchte, war aus dem Ester durch zweimaliges Abrauchen mit konz. Salzsäure erhalten worden und noch nicht durch Kristallisation gereinigt. Es zeigte nur eine ganz schwache Gelbfärbung mit dem Aldehyd, die auf eine Verunreinigung zurückgeführt werden konnte; daß der Ehrlichsche Aldehyd mit Anilin, Phenol und Pyridin, mit letzterem unter Blaufärbung, reagiert, führe ich nur deshalb an, weil dadurch der Nachweis von geringen Mengen Urobilinogen, die sich in diesen Substanzen gelöst haben könnten, unmöglich gemacht ist.

Ueber die Eigenschaften des aus Urobilinogen erhaltenen roten Farbstoffes ist nachstehendes zu erwähnen:

Durch die drei Lösungsmittel Chlorhydrin, Amylalkohol und Chloroform kann er dem Wasser entzogen werden, und zwar durch Epi- und Dichlorhydrin fast vollständig (Clemens), durch Amylalkohol zum größten Teil. In ihm ist der aus Tryptophan erhaltene rote Farbstoff unlöslich. Auch Chloroform nimmt aus der wässrigen Lösung einen Teil des Urobilinogenfarbstoffes auf. Um über seine Lösungsverhältnisse größere Klarheit zu bekommen, mußte ich versuchen, ihn in trockner Form, wenn auch verunreinigt, zu erhalten.

Ich arbeitete dabei mit Fistelgalle, die im Brutofen aufbewahrt wurde. Die Behandlung derselben war der Saillietschen Methode des Urobilinogennachweises im Harn analog. Die Galle wurde mit Eisessig angesäuert, und mit Essigäther geschüttelt. Der Essigäther wurde mit Sodalösung im Ueberschuß gewaschen: die Farbstoffe gehen in die Sodalösung mit dunkelbrauner Farbe über. Diese Lösung wurde vom Essigäther getrennt, angesäuert und mit Aldehyd versetzt. Beim Erhitzen trat die Reaktion ein; die tief dunkelrote Lösung wurde von dem in der starken Säure teilweise ausgefallenen Urobilin, Bilirubin etc. durch Filtration getrennt. Engte ich nun diese Lösung im Vacuum ein, so zersetzte sich der Farbstoff. Die schön burgunderrote Farbe wich einem schmutzigen Chocolatebraun. Wurde der Farbstoff zuerst in den Amylalkohol übergeführt und dieser bei 40° an der Wasserstrahlpumpe verflüchtigt, so geschah das gleiche. Auch bei genauer Neutralisation und Ausfällen der Schwefelsäure mit Baryumcarbonat hatte ich kein größeres Glück. Als ich dann versuchte, den dunkelrot gefärbten Amylalkohol im Vacuum über Schwefelsäure stehen zu lassen, erhielt ich einen gelben Kristallbrei, der zum größten Teil aus dem p-Dimethylamidobenzaldehyd bestand. Der Farbstoff war zerstört. Auch durch Oxydationsmittel kehrte die rote Farbe nicht wieder. Dagegen konnte ich den Farbstoff leicht in festem Zustande durch Aussalzen aus seiner wässrigen Lösung erhalten. Dabei kam ich zu folgender Löslichkeitstabelle:

Wasser	sehr gut	Schwefelkohlenstoff	nicht
Alkohol absol.	sehr gut	Benzol	nicht
Methylalkohol	gut	Xylol	nicht
Aether sulf.	nicht	Aethylenbromid	nicht
Aether petr.	nicht	Anilin	gut
Aether acet.	sehr gut	o-Toluidin	gut
Amylalkohol	sehr gut	Pyridin	sehr gut
Chloroform	sehr gut	Phenol	gut
Aceton	gut	Eisessig	sehr gut
Dichlorhydrin	sehr gut	Paraffin	nicht

In den gesättigten Lösungen der verschiedenen Salze ist er verschieden leicht löslich und läßt sich daher durch sie in mehr oder minder vollkommener Weise aussalzen. Dabei ist es nicht von Bedeutung, ob er sich in salzsaurer oder schwefelsaurer Lösung gebildet hat. Die Farbstoffe der Triphenylmethanreihe lassen sich schlecht, als Salze dagegen, z. B. das Malachitgrün als Zinksalz, leicht ausfällen. Ich versuchte daher, ob auch unser Farbstoff sich bei Zugabe von Zinkchlorid, resp. Zinksulfat leichter gewinnen ließe. Doch konnte ich keinen Unterschied feststellen. Vollständig beinahe fällt der Urobilinogenfarbstoff aus durch Einbringen von trockenem Natriumsulfat oder Ammoniumsulfat in seine saure Lösung. Jedoch hat Zusatz einer gesättigten Lösung dieser Salze in verschiedenem Mengenverhältnis nicht das gewünschte Resultat. Etwas weniger wirksam erweist sich Magnesiumsulfat und steht dabei ungefähr auf gleicher Stufe wie Kaliumchlorid. Das dabei erhaltene Filtrat zeigt leichte Rosafärbung. Dagegen fällt Kaliumsulfat nur zirka die Hälfte des vorhandenen Farbstoffes, jedoch immer noch mehr als Natriumchlorid oder Ammoniumchlorid oder Natriumacetat. Bei Zugabe von Calciumchlorid bleibt ein großer Teil des Farbstoffes in der Lösung zurück.

Niederschlagen konnte ich den Farbstoff nicht. Ich versuchte Silberchlorid, Calciumsulfat und -oxalat, Baryumsulfat. Ihn aus alkalischer Lösung niederzuschlagen, ist deshalb nicht angängig, weil er darin bald zerstört ist.

Die schön dunkelrote Lösung wird bei Zusatz von irgend einem Alkali sofort schmutzig gelbbraun. Nach kurzer Zeit kann beim Ansäuern die rote Farbe nicht wieder erzeugt werden.

Pröschner (55) zeigte, daß der Farbstoff bei Zusatz von Pikrinsäure als amorpher brauner Nieder-

schlag ausfällt. In Amylalkohol löst er sich dann wieder mit granatroter Farbe.

Prösch er versuchte den roten Farbstoff mit Zink und Salzsäure zu reduzieren. „Hierdurch wird der Körper ganz zerstört.“ Ich erhielt nach kurzer Zeit eine farblose Lösung, bei der die rote Farbe auf Zusatz eines Tropfens nitrithaltiger Salpetersäure oder einer dünnen Permanganatlösung sofort wieder erschien. Läßt man allerdings den naszierenden Wasserstoff noch lange auch auf die schon entfärbte Lösung einwirken, dann läßt sich das Rot in der ersten Intensität nicht wieder gewinnen. Mit Zinn und Salzsäure oder Schwefelsäure oder Eisessig gelingt die vollständige Reduktion nur schlecht. Der reduzierte Farbstoff ist in Alkali unlöslich. In dieser Form ist er ziemlich beständig. So konnte ich beim Lösen des mit Ammoniak ausgefällten Reduktionsproduktes noch nach 48 Stunden durch Oxydation ein Rot von annähernd gleicher Intensität erhalten; der Niederschlag blieb während dieser Zeit offen dem Licht und der Luft ausgesetzt.

Ob sich so der Farbstoff von dem in alkalischem Wasser leicht löslichen Urobilin, Bilirubin etc. genügend trennen läßt, konnte ich noch nicht entscheiden.

Die Haltbarkeit des roten Farbstoffes ist keine sehr große. Rohde (58) bemerkt, „ein Zuviel von Schwefelsäure bewirkt ein Umschlagen des Rot-Violetts in ein schmutziges Grün, nach Wasserzusatz erscheint aber die rote Farbe wieder. Prösch er (55) erwähnt, daß Sonnenlicht sie zerstöre. Auch mir wurde die saure rote Lösung durch sechswöchiges Stehen am Licht zerstört. Die Lösung wird dabei braunrot.

Die rote Farbe des Urobilinogenfarbstoffes ist durch ein charakteristisches Spektrum ausgezeichnet. Es zeigt zwei Streifen, einen breiten verwaschenen von λ 615—570 und einen schwächeren undeutlichen bei λ 555—540 (Rohde). Pröschers

Farbstoff zeigte noch einen Streifen im Grün, doch ist dieser nach Neubauer auf eine Verunreinigung mit Urobilin zurückzuführen.

Fassen wir die Eigenschaften des roten Urobilinogenfarbstoffes noch einmal kurz zusammen, so haben wir in ihm einen Körper, der durch Kondensation des Benzaldehyds mit einem oder zwei Urobilinogenmolekülen mit Hilfe von Mineralsäure entsteht, der in Alkali farblos und unbeständig ist, der sich zu einem farblosen alkalibeständigen Körper reduzieren läßt.

Eine zweite Farbenreaktion, die mit dem Urobilinogen positiv, mit dem Urobilin dagegen ebenfalls negativ ausfällt, ist eine Diazoreaktion. Sie wurde von Ehrlich (17) 1886 angegeben zusammen mit anderen Diazoreaktionen des Harns. Von diesen hat klinisches Interesse und Bedeutung erlangt nur die in alkalischer Lösung, während eine primäre Diazoreaktion in saurer Lösung fast ganz unberücksichtigt blieb. Die Reaktion besteht darin, daß manche Urine mit der frisch bereiteten sauren Lösung von Sulfodiazobenzol versetzt, eine intensive Orangefärbung zeigten. Bei Zusatz von Ammoniak macht das Orange einem intensiven Zitronengelb Platz. Die drei einzigen Arbeiten, die sich mit dieser Reaktion befaßten, stammen von Petri (53), Oppenheim (52) und Gualdi (27). Doch konnte aus den klinischen Beobachtungen über ihren positiven Ausfall kein Schluß auf den die Reaktion gebenden Körper gezogen werden. Ehrlich meinte, daß dieser ein Gallenfarbstoffderivat sein müsse, vielleicht das Urobilinogen. Zur Stütze seiner Annahme führt er an, daß der Körper mit Aether aus dem Harn extrahiert werden kann, daß die primär vergilbte Lösung unter gewissen Versuchsbedingungen (durch einen gewissen Ueberschuß von Sulfodiazobenzol) in einen Farbkörper umgewandelt werden kann, der in stark saurer Lösung

blaßviolett mit Fluoreszenz, in schwach saurer grün, in schwach alkalischer gelb, in stark alkalischer rot erscheint und somit an das analoge Farbenspiel des Bilirubinderivates erinnert; daß die diarrhoischen Stühle außerordentlich häufig die gleiche Reaktion zeigen, daß die Fälle, in denen die Harnreaktion auftritt, häufig mit leicht icterischer Färbung der Haut einhergehen.“ Heute bei unserer besseren Kenntnis über das Vorkommen des Urobilins und seines Chromogens im Organismus würden diese Gründe für die Ehrlich'sche Annahme ja nicht mehr stichhaltig sein. Doch sie ist richtig.

Denn ich konnte mich davon überzeugen, daß überall, wo Urobilinogen vorkommt und die Ehrlich'sche Aldehydreaktion positiv ausfällt, auch diese sogenannte „Eigelb-Reaktion“ vorhanden ist. In urobilinogenreichem Harn, in entsprechender Galle, im Stuhl habe ich sie positiv gefunden; desgleichen natürlich vornehmlich im Sallets'schen Essigätherextrakt des Harns. Als charakteristisch für diese Reaktion kann nur die primäre Orangefärbung bezeichnet werden. Denn andere Substanzen, die ebenfalls einen Azofarbstoff bilden können, gehen mit in den Essigätherextrakt über, so z. B. die aromatischen Oxysäuren. Sie sind im Harn ja nur in geringer Menge (0,01—0,02 pro Liter normalen Harns) vorhanden, genügend jedoch, daß ihr in alkalischer Lösung intensiv rotgefärbter Azofarbstoff den schwefelgelben des Urobilinogens verdecken kann.

Um mir über Farbenton und -intensität des aus den aromatischen Oxysäuren hergestellten Azofarbstoffes ein Urteil bilden zu können, stellte ich sie mir nach dem von Baumann (4) angegebenen Verfahren her. In saurer Lösung stellt ihre Azoverbindung eine schwach gelb gefärbte Flüssigkeit dar, sie würden also eine intensive Eigelbreaktion nicht stören. Gelb

ist aber eine so wenig charakteristische Farbe für eine Reaktion, besonders des Harns. Ich mußte daher versuchen, ob ich durch Kupplung mit anderen diazotierten primären Aminen nicht besser gefärbte Verbindungen erhalten konnte. Von den in der klinischen Chemie noch angewandten Diazoreagentien war das p-Amidoacetophenon gleich auszuschließen. Denn zwischen seinem und dem mit der Sulfanilsäure dargestellten Azofarbstoff war bezüglich der Färbung kein Unterschied. Eine intensivere — tieforange — Färbung zeigte eine Urobilinogenlösung, die mit frisch diazotiertem p-Nitranilin versetzt war. Doch auch diese konnte noch nicht genügen. Ich versuchte daher noch Anilin, Benzidin, α Naphtylamin und β Dinaphtylamin. Letztere beiden zeigen hinsichtlich der Farbe der mit ihnen dargestellten Verbindung keinen Unterschied, weshalb ich spätere Versuche nur mit α Naphtylamin anstellte. Ihre Diazoverbindung gibt mit Urobilinogen einen dunkelrotbraunen Farbstoff. Diazotiertes Anilin gibt mit Urobilinogen in salzsaurer Lösung einen Farbstoff, der nach kurzer Zeit eine kirschrote Lösung gibt, Benzidin, frisch diazotiert, dagegen sofort eine blutrote Farbe. Mit Anilin und Benzidin hatte ich daher die Möglichkeit, mir einen Azofarbstoff aus Urobilinogen herzustellen, der an seiner Farbe sich unschwer erkennen ließ. Die aromatischen Oxysäuren bildeten damit in saurer Lösung einen schwach schwefel- bis chromgelb gefärbten Körper, störten also nicht. Nun konnte ich untersuchen, ob andere, eine positive Ehrliche Aldehydreaktion gebende Körper sich auch in einen sauren Azofarbstoff überführen ließen.

Zuerst untersuchte ich den Blutfarbstoff und seine Derivate. Haemin, Haematin, Haematoporphyrin, Bilirubin und Urobilinlösungen zeigen beim Versetzen mit frisch diazotiertem Anilin, Benzidin oder α Naphtylamin keine Verfärbung. Hier fällt ja auch die Aldehydprobe

negativ aus. Dagegen geben die bei der Reduktion von Haemin und Haematoporphyrin erhaltenen farblosen Lösungen intensiv rote Färbungen. Haemopyrrol gibt nach Marchlewski (43), mit diazotiertem Anilin versetzt, eine kirschrote Färbung. Bei dem aus Haematin durch die Zinkstaubdestillation hergestellten Präparat wurden Kristalle erhalten. Deren Analyse erwies die Verbindung als Haemopyrroldisazodibenzolhydrochlorid. Von anderen Pyrrolderivaten untersuchte ich noch die $\alpha\alpha$ -Dimethylpyrrolessigsäure. Mit diazotiertem Anilin sowohl wie mit Benzidin gibt sie intensiv rote Farblösungen. In starker Verdünnung nehmen sie eine gelbe Farbe an; spektroskopisch beginnt die Absorption in der Gegend von E und bleibt ununterbrochen bis an das violette Ende des Spektrums.

Die erste Arbeit über Diazoreaktionen an Pyrrolen erschien vor nunmehr 20 Jahren. Sie stammt von O. Fischer und Hepp (17). „In saurer, am besten essigsaurer Lösung entsteht ein normaler Azofarbstoff, in neutraler und alkalischer Lösung ein Disazokörper oder ein Gemenge von Azo- und Disazofarbstoff.“ Bei der Einwirkung von frisch diazotiertem Anilin auf Pyrrol entsteht je nach dem Mengenverhältnis der beiden Komponenten untereinander das gelbe Pyrrolazobenzol oder das blaue Pyrroldisazodibenzol. „Das benützte Diazoreagens greift zunächst an der α Stellung an; erst wenn hier der Wasserstoff schon ersetzt ist, können β Azopyrrole erhalten werden.“ Wie nun Pyrrol große Aehnlichkeit mit dem Phenol aufweist, so besteht die gleiche Analogie zwischen den Azopyrrolen und den Oxyazoverbindungen der aromatischen Reihe. So tritt auch hier die tautomere Hydrazonform auf. (Plancher 54) „Durch diese Auffassung wird es leicht verständlich, daß die Azopyrrole ungleich stärkere Basen sind als die Pyrrole und ferner, daß einige von ihnen, (wie die α Azopyrrole) sich mit Phenylisocyanat verbinden, während dies die entsprechenden Pyrrole nicht tun.“ Vielleicht daß das Urobilinogen sich als Azofarbstoff gewinnen läßt. So wäre diese Diazoreaktion dann von theoretischer Bedeutung. Eine praktische wird sie wohl nie erhalten; denn sie ist lange nicht so empfindlich wie die Probe mit p-Dimethylamidobenzaldehyd.

Die Chemie des Pyrrols und seiner Derivate hat in der letzten Zeit bedeutend an Interesse gewonnen; (Ciamician 7) ist doch der Pyrrolkern in verschiedenen wichtigen Substanzen des Pflanzen- und Tierkörpers gefunden worden. Die Ähnlichkeit des Pyrrols mit dem Phenol hat sich immer klarer dargestellt. So können aus den Pyrrolen nach Angeli (1) auch Nitroso- und Nitropyrrole entstehen. Diese Verbindungen können durch salpetrige Säure, leichter durch Amylnitrit bei Gegenwart von Natriumäthylat dargestellt werden. „Nur die Pyrrole und Indole, die ein Wasserstoffatom in β Stellung unbesetzt enthalten, können in die entsprechende Nitroverbindung übergeführt werden.“ Ob sich daher diese Reaktion mit Urobilinogen durchführen lassen wird, ist zweifelhaft. Denn Haemopyrrol, das doch auch die Muttersubstanz für Urobilinogen darstellt, ist mit größter Wahrscheinlichkeit ein $\beta\beta_1$ Methylpropylpyrrol. Der Versuch wäre jedenfalls zu machen.

Die Darstellung des Urobilinogens aus den Exkreten des Körpers hat durch die Kenntnis der beiden Farbenreaktionen, die sich mit ihm anstellen lassen, nicht viel gewonnen. Die Trennung vom Urobilin, Haematoporphyrin etc. stößt dadurch auf die größten Schwierigkeiten, daß in dem Verhalten dieser Körper gegen Lösungsmittel keine großen Unterschiede bestehen. Auch beim Aussalzen verhalten sich die drei Stoffe gleich. Zudem sind die Methoden beschränkt durch die große Zersetzlichkeit des Chromogens. Die einzige, einigermaßen brauchbare Methode zur Herstellung einer relativ reinen Urobilinogenlösung ist die von Sallet. Durch Waschen des sauren Essigätherextraktes mit Wasser wird diesem das Urobilin entzogen und so vom Urobilinogen getrennt. Mit ihm bleiben aber noch genug andere Körper im Essigäther zurück. Auch die aromatischen Oxysäuren befinden sich unter diesen, so daß ich das Urobilinogen als Kondensationsprodukt mit dem aromatischen Aldehyd oder als Azofarbstoff nur mit den Oxysäuren gewinnen könnte; überhaupt das Chromogen durch Kuppelung an einen Aldehyd oder als Azofarbstoff aus den Körper-

exkreten zu erhalten, dürfte bei der großen Reaktionsfähigkeit der beiden Reagentien auf die größten Schwierigkeiten stoßen. Vielleicht eignet sich dazu die Nitrosorreaktion. Doch wie oben schon gesagt, ihr positiver Ausfall ist zweifelhaft. Ein besserer Weg wäre vielleicht, durch Reduktion von Haematin und seinen Derivaten zu ihm zu gelangen, also von einem reineren Ausgangsmaterial auszugehen. Dies müssen spätere Untersuchungen entscheiden, die dann über die Konstitution des Körpers hoffentlich auch einigen Aufschluß bringen werden. Heute wissen wir nur, daß das Urobilinogen ein Pyrrolderivat ist, das mit der größten Wahrscheinlichkeit am Ring noch ein Wasserstoffatom frei hat. Bei der Reduktion des Urobilins entsteht sein Chromogen nicht durch Hydrierung des Pyrrolringes; denn ein solcher gibt keine Aldehyd- und keine Diazoreaktion mehr.

Literaturverzeichnis.

- 1) Angeli-Spica-Calvetto, Chem. Ctrbl. 1902. II, p. 705. 1 a) Archard u. Morfaux compt. rend. soc. biol. 51. Ref. Malys Jahresbericht. 99. 29, p. 808. —
- 2) Bamberger, E., Annal. d. Chem. 1899. Bd. 305, p. 299. — 3) Bauer R., Centrbl. f. inn. Med. 1905. 34, p. 833. Centrbl. f. inn. Med. 1906. Heft 2. —
- 4) Baumann, Ztschrift f. phys. Chem. 1882. 6, p. 191. —
- 5) Borträger, Ztschrift f. anal. Chem. 1881. 20, p. 88. —
- 6) Boehme, Ctrbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. I. Abt. 1905. 40, p. 129. — 7) Ciamician, Über die Entwicklung der Chemie des Pyrrols im letzten Vierteljahrhundert. Vortrag gehalten vor der deutschen chemischen Gesellschaft. Ber. 1904. 37 IV, p. 4200. — 8) Clemens, Die Diazo-Reaktionen des Harns. Hab. Schr. Freiburg Br. 1899.—
- 9) Clemens, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1901. 71. —
- 10) Deroide, compt. rend. soc. biol. 50. Ref. Malys Jahrb. 98. Bd. 28, p. 275. — 11) Disqué, Ztschrift f. phys. Chem. 1878/79. II, p. 259. — 12) Ehrlich, Paul, Über die Sulfo-diazobenzolreaktion. Vortrag. Dtsche med. Woch. 1884. No. 27. — 13) Ehrlich, P., Med. Woche. 1901. No. 15. — 14) Ellinger, Ber. 1905. 38, p. 2884. —
- 15) Feist, Ber. 1902. 35, p. 1647. — 16) Filehne, W., Virch. Arch. 1890. 121, p. 605. — 17) O. Fischer u. Hepp; Ber. 1886. 19 II, p. 2251. — 18) E. Fischer, Ber. 1902. 36, p. 24. — 19) E. Fischer, Lieb. Annal. 1887. 239, p. 238. 1887. 242, p. 372. Ber. 19, p. 2988. 1886. 20, p. 815. 1887. — 20) E. Fischer, Ber. 1901. 34, p. 433. — 21) Fischler, Das Urobilin u. seine klin. Bedeutung Hab. Heidelberg 1906. — 22) Freund und Lebach, Ber. 1905. 38, p. 2640. — 23) Garrod und Hopkins, Journ. of Phys. 1896. 20, p. 102. 1898. 22, p. 451. — 24) Gerhardt, C., Sitzgsber. d. phys.

- med. Ges. zu Würzburg. 1881. p. 26. — 25) Gerhardt, D., Hydrobilirubin u. seine Beziehung zum Icterus. Diss. med. Berlin 1899. — 26) V. Grafe, Untersuchung über die Holzsubstanz. Sitzgsber. d. Wiener Akad. d. Wiss. Mathem.-naturw. Klasse. Bd. 113 I, p. 253. 1904. — 27) Gualdi, Riforma med. Roma. 1903. 19, p. 740. Biochem. Ctrbl. 1904. II. 1003. — 28) Hammarsten, Verhdl. d. wissensch. Societät in Upsala. 1893. p. 5 u. 13. 29) Herter, Journ. of biol. Chem. 1906. I. p. 251. — 30) Hildebrandt, Ztschrft f. klin. Med. 1906. 59, p. 351—444. — 31) Hopkins und Cole, Journ. of Physiol. 1903. 29, p. 451. — 32) Hoppe-Seyler, Ber. 1874. 7, p. 1065. — 33) Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch d. physiol. u. pathol. chem. Analyse. Berlin. Hirschwald 1903. — 34) Jaffé, Virch. Arch. 1869. 47, p. 405. — 35) Jacoby, Ztschrft f. phys. Chem. Bd. 30. p. 174. — 36) Kimura, D. Arch. der klin. Med. 1904. 79, p. 274. 37) Knorr, Ber. 22, p. 2100. — 38) Küster, Liebig's Ann. 1906. Bd. 345, p. 1. — 39) Ladage, Bijdrage tot de Kennis der urobilinurie Diss. med. Leiden. 1899. Ref. in Maly's Jahrber. 1899. 29, p. 838. — 40) Lewin, Zur Kenntnis d. Dimethylamidobenzaldehyds. Diss. phil. Berlin 1903. — 41) Magnus-Levy, Hofmeister's Beiträge z. chem. Phys. II, p. 261. — 42) Maly, Ann. d. Chem. u. Pharm. 161, p. 368. 163, p. 77. Med. Ctrbl. 1871, 54. — 43) Marchlewski, Ztschrft f. phys. Chem. 1906. 47, p. 331. — 44) Mörner, Ztschrft f. phys. Chem. 1887. 11, p. 127. — 45) Müller, Fr., Jahresbericht d. schles. Gesellsch. med. Abt. 1892. I. p. 1. — 46) Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. N. F. 26. 333. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1888. 24, p. 442. — 47) Nencki u. Zaleski, Ztschrft f. phys. Chem. 1900. 30. 384. — 48) Neubauer, O., Sitzgsber. d. Gesellsch. f. Morph. u. Phys. München 1903. Juli H. 2. — 49) Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns. Bearb. v. Huppert. Wiesbaden-Kreidel 1898. — 50) le Nobel, Pflüg. Arch. 1887. 40, p. 516. — 51) Noelting, Bull. Soc. ind. de Mulhouse. 1902. 72, p. 236. — 52) Oppenheim, Über die gelbe Diazoreaktion. Diss. med. Berlin 1885. —

- 53) Petri, Ztschrift f. klin. Med. 1884. 7, p. 500. —
54) Plancher u. Soncini, Gazz. chim. 1902. 32 II,
p. 447. cit. nach Ciamician. — 55) Pröscher, Ztschrift
f. phys. Chem. 1901. 31, p. 520. — 56) Riva, Ref.
Maly's Jahresber. 1897. Bd. 27, p. 519. — 57) Riva u.
Zoja, Comm. al I congresso ital. di medic. intern. 1888.
cit. nach Neubauer u. Vogel. — 58) Rohde, Ztschr. f.
phys. Chem. 1905. 44, p. 161. — 59) SAILLET, Rev. de
Méd. 1897. 17, p. 109. — 60) Salkowski, Chem. Ctrbl.
1897. 1, p. 1133. — 61) Schlesinger, Deutsche med.
Wochschr. 1903. No. 32. — 62) Ad. Schmidt, Münch.
med. Wochschr. 1903. No. 17. — 63) Ad. Schmidt,
Arch. f. Verdauungskrankheiten. Bd. IV. — 64) Schmidt
u. Baumstark, Arch. f. Verdauungskrankheiten. 9,
p. 200. — 65) Steinert, Über den p-Dimethylamido-
benzaldehyd. Diss. phil. Berlin 1904.

-----*

Danksagung.

Vorstehende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Professor Clemens im Laboratorium der medizinischen Klinik angefertigt. Ihm sowohl wie Herrn Geh. Rat Professor Bäumler für die Übernahme des Referats gebührt mein aufrichtiger Dank. Auch möchte ich Herrn Professor Windaus für seine freundlichen Ratschläge in chemischen Fragen an dieser Stelle nochmals bestens danken.

Vita.

Geboren in Freiburg am 28. November 1883 als zweiter Sohn des Universitätsprofessors und Direktors der medizinischen Poliklinik Dr. Ludwig Thomas und seiner Frau Betti geb. Fischer besuchte ich das Gymnasium meiner Vaterstadt bis Juli 1901. Nach bestandnem Abiturientenexamen studierte ich in Freiburg bis S.-S. 1904. Das W.-S. 1904/5 verbrachte ich in München und beendigte dann meine Studien in Freiburg. Am 3. März 1904 bestand ich das Physikum, am 3. Dezember 1906 das Staatsexamen; am 7. Dez. 1906 promovierte ich. Von April bis Oktober diente ich mein erstes halbes Jahr mit der Waffe.

14336



totaler Choledochusfistel, die er mit Phosphor oder Amylalkohol vergiftete. Aus seiner Versuchsanordnung geht mit Sicherheit hervor, daß dieses Urobilin in der Leber entstanden ist. Die Leberzelle ist zwischen Pfortader und Gallengang geschaltet, sie muß also das ihr auf der einen Seite zugeführte Urobilin durch sich passieren lassen, um es auf der anderen Seite, als Bestandteil der Galle, wieder abgeben zu können. Sie wird also Urobilin oder nahe Derivate desselben in sich heherbergen müssen, die in Freiheit gesetzt werden, wenn die Zelle durch obige spezifische Lebergifte zerstört, aufgelöst wird. Bei der Autolyse der Leber finden ja starke Reduktionsprozesse statt; Magnus-Levy (41) fand sogar naszierenden Wasserstoff, entsprechend auch Urobilin. Ob es aus dem Bilirubin oder aus dem Blutfarbstoff direkt entstand, sei noch dahingestellt. Bei der mit Phosphor vergifteten Leber finden die autolytischen Vorgänge viel lebhafter statt. (Jacoby [35].)

Die sicherste und einfachste, daher klinisch brauchbarste Urobilinogenreaktion ist die Bildung eines roten Farbstoffes durch Kuppelung des Chromogens mit dem Ehrlichschen p-Dimethylamido-benzaldehyd. Ueber die Reaktion selbst werden später genauere Angaben gemacht, hier möchte ich nur ihre klinische Bedeutung darlegen.

Urobilin und Urobilinogen sind in klinischer Bedeutung gleichwertig. (Hildebrandt [30].) Die Frage daher, „ist die Schlesingersche Zinkacetat- oder die Ehrlichsche Aldehydprobe vorzuziehen“, läßt sich so nicht entscheiden. Beide Proben sind einfach und führen zu dem gleichen Resultat, wenn die Vorbedingungen erfüllt sind. Diese sind nun bei der Schlesingerschen Probe sehr einfach, hier kommt es gar nicht auf das Alter des Harns an; er kann ganz frisch oder schon mehrere Tage alt sein; die Stärke

der Fluoreszenz wird immer bei richtig eingehaltener Reaktion der Flüssigkeit proportional der Menge des Urobilins sein, wenn man nur Harn und Reagens 24 Stunden stehen läßt; solange dauert es, bis der größte Teil des Urobilinogens transformiert ist. Daraus ergibt sich, unter welchen Umständen die Aldehydprobe geeigneter erscheint. Ueberall da, wo der Arzt ganz sicher ist, einen frischen Harn zu untersuchen, da wird ihm die Aldehydprobe sofort sicherere Aufschlüsse geben. Sie eignet sich daher am besten für die Sprechstunde. Mit der Zinkacetatprobe sofort sämtliches Urobilin nachzuweisen, wäre nur möglich, wenn vorher alles Urobilinogen oxydiert wäre, z. B. durch Zusatz von einigen Tropfen Jodtinktur. Doch die Sicherheit, genügend Jodtinktur zugesetzt zu haben, habe ich erst, wenn darnach die Aldehydprobe negativ ausfällt. Damit fällt aber die Einfachheit der Schlesingerschen Probe bei ganz frischen Harnen und damit ihre Bedeutung für die Sprechstunde.

Zur Untersuchung des Stuhles,

auch wenn dieser ganz frisch ist, eignet sich die Zinkacetatprobe besser. Denn kleine Mengen von Urobilin werden stets im Stuhl sein, die Fluoreszenz also, wenn auch schwach, sichtbar sein. Sollte nur Urobilinogen in ihm enthalten gewesen sein, so wird, wenn nicht unter den für diese Substanz nötigen Kautelen gearbeitet wird, die Fluoreszenz nicht lange auf sich warten lassen. Ist das einmal nicht der Fall, so ist diesem negativen Ausfall der Schlesingerschen Probe eine solche Wichtigkeit beizumessen, daß jeder Arzt sich die Zeit nehmen wird, die Ablesung nach 24 Stunden noch einmal zu wiederholen. Welche Fehlerquellen bei der Urobilinogenprobe im Stuhl zu

beachten sind, wird weiter unten besprochen werden, jedenfalls genügt hier die einfache Aldehydprobe nicht.

II. Chemische Eigenschaften.

Das Urobilinogen ist weder in reinem Zustande noch überhaupt in fester Form bis jetzt erhalten worden, sondern nur aus dem Nachdunkeln von Flüssigkeiten unter gleichzeitigem Auftreten des Urobilinstreifens als darin gelöst postuliert. A priori ist daher auch über die Einheit dieses Chromogens nichts ausgesagt. Huppert (49) möchte das in den Excreten des Körpers vorkommende als Urobilinogen, das auf künstlichem Wege durch Reduktion von Urobilin und verwandten Substanzen erhaltene Produkt als Urobilinweiß, in Analogie mit den Leukoverbindungen anderer Farbstoffe, bezeichnen. Dadurch würde auch äußerlich zum Ausdruck gebracht, daß über die Chromogene zu wenig bekannt ist, als daß man sie als identisch ansehen dürfte. Beide Körper reagieren mit verschiedenen Substanzen in gleicher Weise; auch spectralanalytisch zeigen sie keinen deutlichen Unterschied; mehr läßt sich heute über ihre Identität nicht sagen.

Die Lösung des Urobilinogens ist wasserklar oder leicht gelblich gefärbt. Als reine Urobilinogenlösung bezeichnet man wenigstens eine Lösung, in der andere Farbstoffe nicht mehr nachweisbar sind und die nach Stehenlassen den Urobilinstreifen aufweist.

Daß weder das künstliche noch das natürliche Chromogen in fester Form erhalten werden konnte, liegt an seiner großen Empfindlichkeit gegenüber dem Luftsauerstoff unter Lichtzutritt, durch den es in kurzer Zeit in Urobilin übergeführt wird. Seine Haltbarkeit in Lösung ist nicht nur abhängig von der Stärke und

Art ihrer Acidität oder Basicität, sondern auch von der Gegenwart oxydierender Substanzen, dem Einfluß des Lichtes und der Temperatur.

In der Literatur finden sich nur spärliche Angaben über die Haltbarkeit. S a i l l e t (59) macht Angaben über die Abhängigkeit der Transformierung von der Intensität und Qualität des Lichtes; ferner findet er sie noch abhängig von der Reaktion und zwar so, daß Mineralsäuren, besonders Salzsäure, aber auch Ammoniak, schnell transformieren. Ich konnte im allgemeinen seine Angaben bestätigen. Mineralsäuren verändern das Chromogen viel schneller als Essigsäure von gleicher Konzentration, Salzsäure wirkt stärker als Schwefelsäure; die Wirkung der Alkalien steht ungefähr der der Essigsäure gleich, Kalilauge transformiert etwas langsamer als Ammoniak. Am längsten bleibt das Urobilinogen in neutraler Lösung erhalten. Doch geht die Transformation in Lösungen mit sehr schwacher ($n/100$), saurer oder alkalischer Reaktion nicht viel schneller vor sich.

Um genauere Angaben zu bekommen, stellte ich folgenden Versuch an: zirka 1,5 l urobilinogenreichen Harns wurden nach den Angaben S a i l l e t s (59) mit Essigäther extrahiert; der Essigäther wurde mit Wasser gewaschen, dem Soda im Ueberschuß zugesetzt war. Dabei gehen sämtliche Farbstoffe in das Wasser, das dann sofort mit $n/10$ Salzsäure neutralisiert wurde. Diese Stammlösung wurde in Reagensgläschen verteilt, so daß in jedes 5 ccm kamen, ich also annehmen konnte, in jedem die gleiche Menge Urobilinogen zu haben. Darauf wurde jeweils Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Kalilauge, Ammoniak in der Menge zugesetzt, daß die mit Wasser auf 10 ccm aufgefüllte Lösung einer $n/4$, $n/10$, $n/50$, $n/100$ Lösung entsprach. Mit einem Teil der normalen Stammlösung wurde sofort die Aldehydreaktion gemacht. So hatte ich die Möglichkeit, die späteren Proben mit dieser zu vergleichen. Dabei konnte ich feststellen, daß in einer Lösung der Mineralsäuren, die einer $n/4$ gleichkam, die Transformation schon nach 5 Stunden beendet war. In der Lösung, die in gleicher Konzentration Essigsäure, Ammoniak und Kalilauge

enthielt, trat mit dem Aldehyd noch eine schwache Rotfärbung auf. Sie verschwand erst nach 48 Stunden, in der ammoniakhaltigen zuerst. Früher, schon 32 Stunden nach Beginn des Versuchs, ließ sich in den Lösungen der Mineralsäuren, die einer $n/_{10}$ gleichkamen, kein Urobilinogen mehr nachweisen. Die Lösungen, denen Essigsäure, Ammoniak und Kalilauge zugesetzt war, verhielten sich bei gleicher Konzentration ungefähr gleich. Bei der $n/_{10}$ und $n/_{50}$ war noch der Unterschied zu bemerken, daß die ammoniakhaltige Lösung etwas schneller transformierte. Dagegen fiel der Unterschied weg bei der $n/_{100}$ Lösung. Hier war das Chromogen nicht nur bei allen drei Lösungen zu gleicher Zeit noch in gleicher Menge vorhanden, sondern die Stärke der Rotfärbung, die mit dem Reagens hervorzurufen war, war die gleiche wie in der neutralen Lösung.

Ueber den Einfluß des Lichtes bei der Ueberführung des Chromogens bemerkt S a i l l e t: „Die Zeit, wie lange die Urobilinogenlösung dem Licht ausgesetzt werden muß, bis das Chromogen vollständig verschwunden und in Urobilin übergeführt worden ist, wechselt zwischen einigen Minuten und einigen Stunden, je nachdem man die Lösung dem Sonnenlicht oder dem diffusen Tageslicht aussetzt. Auch die Klarheit der Lösung ist von Einfluß. Mit Hilfe von gefärbten Gläsern konnten wir den Einfluß der verschiedenen Lichtarten untersuchen und folgende Zusammenstellung erhalten.“

(Die Wirkung des weißen Lichtes gleich 100 gesetzt.)

Weiß 100, rot 25, gelb 78, grün 72, blau 94, violett 99.

Die praktische Verwertung dieser Resultate wird jeder, der mit diesem Chromogen zu arbeiten hat, nicht außer acht lassen dürfen. Ueber die Einwirkung des Lichtes können wir wohl nach diesen Angaben annehmen, daß sie stattfindet proportional der Menge der chemisch wirksamen Strahlen, die in dem Licht enthalten sind. S a i l l e t's aus obigen Angaben konstru-

ierte Kurve würde mit der gewohnten über die chemische Einwirkung des Lichtes nicht ganz übereinstimmen, doch rührt diese Differenz sicher nur davon her, daß S a i l l e t sein verschieden farbiges Licht dadurch erhalten hat, daß er andere Lichtsorten durch farbige Gläser absorbieren ließ. Seine Lichtstrahlen sind daher noch Gemische verschiedener Wellenlängen und aus diesem Grunde zur exakten Bestimmung der Lichteinwirkung nicht zu gebrauchen. Doch halte ich obige Angaben für genau genug, als daß sie noch einer genaueren Präzisierung vorläufig bedürften. Heute braucht eine Urobilinogen enthaltende Lösung nicht so ängstlich das Licht zu meiden, da uns zu seinem Nachweis viel empfindlichere Methoden zur Verfügung stehen und wir heute daher noch Urobilinogen in einer Lösung finden können, wo man früher annehmen mußte, daß es schon längst vollständig transformiert sei.

Der Einfluß des Luftsauerstoffs oder oxydierender Mittel beschäftigte naturgemäß alle Autoren, die mit dem Urobilinogen zu tun hatten. J a f f é (34) und in jüngster Zeit B a u e r (3) untersuchten die Wirkung von fertigem und nascierendem Sauerstoff. Die Resultate ihrer und anderer Beobachtungen stimmten mit dem überein, was man nach unserer theoretischen chemischen Kenntnissen erwarten konnte. Luftsauerstoff transformiert nur langsam; auch stundenlanges Durchblasen von Luft durch eine Urobilinogenlösung hat fast keine sichtbare Wirkung. Bringt man jedoch das Chromogen mit nascierendem Sauerstoff zusammen, so tritt sofort der vorher fehlende Urobilinstreifen auf. Die Stärke der E h r l i c h s c h e n Reaktion nimmt dabei stark ab. So führte G e r h a r d t (24) sein Urobilinogen durch J o d, R i v a und Z o j a (57) durch Salpetersäure, andere durch Permanganat oder sonstige Oxydationsmittel in Urobilin über. B a u e r (3) setzte Wasserstoffsperoxyd urobilinogenreichem Harn

zu und erhielt nach 15 Minuten eine negative Benzaldehydreaktion.

Ueber den Einfluß der Temperatur fand ich keine Angaben in der Literatur. Beim Eindampfen des Essigätherextraktes nach Sallet, d. h. einer Lösung von Urobilin, Urobilinogen und anderen Substanzen, im Vacuum bei 30° erhielt ich einen Rückstand, den ich eine Stunde lang bei 110° im Trockenschrank erhitzen konnte, ohne daß die Aldehydreaktion verschwunden wäre. Eine wässerige, neutrale Lösung von Urobilinogen erhitzte ich offen, nur mit einem Rückflußkühler versehen, 3 Stunden lang zum Kochen und erhielt dann noch eine annähernd gleich starke positive Aldehydreaktion.

Das Urobilinogen verhält sich hinsichtlich seiner Löslichkeit ungefähr so, wie Urobilin, Haematoporphyrin und andere hier in Betracht kommende Farbstoffe. Es ist im allgemeinen leichter löslich als die fertigen gefärbten Produkte. Daher stößt seine Isolierung speziell vom Haematoporphyrin aus diesen Gemischen auch auf die größten Schwierigkeiten.

Urobilin und sein Chromogen kommen im Harn von Patienten leicht in der Menge vor, daß der Salletsche Essigätherextrakt genügend von beiden Substanzen enthält. Einen an Haematoporphyrin reichen Harn dagegen zu bekommen, gehört zu den Seltenheiten. Ich stellte mir daher Haematoporphyrin nach unten angegebener Methode her und untersuchte seine Löslichkeit in denselben Lösungsmitteln, in denen die des Urobilins und seines Chromogens untersucht war. Ich verzichtete darauf, dem Harn das kristallisierte Produkt zuzusetzen, da hierdurch das Zustandekommen der natürlichen Verhältnisse doch nicht garantiert war.

Eine Uebersicht über die Löslichkeitsverhältnisse gebe ich, glaube ich, am besten in Tabellenform. Ich reihe ihr das Haemato-

porphyrin gleich an. Erhalten wurde es aus Pferdeblut, dessen coaguliertem und von Wasser möglichst befreitem Eiweiß zuerst nach der Mörnerschen (44) Vorschrift mit Schwefelsäure das Haematin entzogen und in den Alkohol übergeführt wurde, aus dem dann durch Salzsäurezusatz das Haemin, der salzsaure Ester des Haemamins, auskristallisierte. Von diesem nicht umkristallisierten Rohprodukt des Haemins wurden nach den Angaben von Nencki und Zaleski (47) 5 g in mit Bromwasserstoff gesättigtem Eisessig gelöst, das entstehende Haematoporphyrin vom Eisen getrennt und als salzsaures Salz zur Kristallisation gebracht.

Zu der Tabelle habe ich ferner zu bemerken, daß die Prüfung auf die gelöste Urobilinogenmenge mit der Ehrlichschen Aldehydreaktion geschah. Daher sind die Resultate bei Aceton, Anilin und Pyridin nicht einwandfrei; denn diese Körper reagieren selbst mit dem Aldehyd.

Die Bestimmung wurde für Urobilin und Urobilinogen so ausgeführt, daß der Sailletsche Essigätherextrakt im Vacuum bis zur Trockne abdestilliert, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und filtriert wurde. Die alkoholische Lösung wurde geteilt und zur Hälfte durch metallisches Natrium alkalisch gemacht. Mit diesen Lösungen wurden Reagensgläser zu gleicher Höhe gefüllt und auf dem Wasserbad der Alkohol verjagt. So konnte ich die Lösungsversuche mit der allerdings unreinen, aber trocknen Substanz anstellen. Sie erst in trockner Form in die Reagensgläser zu verteilen, ist deshalb nicht gut angängig, weil beim Verdunsten der an den Wänden des Gefäßes haftende Ueberzug allzu klebrig ist; er läßt sich daher schwer verteilen und in gleichen Mengen in andere Gefäße überführen.

Der sauren, wässrigen Lösung, also z. B. dem Harn, läßt sich Urobilin und Urobilinogen durch Chloroform entziehen. Darauf gründeten Garrod und Hopkins (23) ihre Methode der Urobilindarstellung aus Harn. Das gleiche Resultat und vielleicht in besserer Weise wird durch Essigäther nach Sallet (59) erreicht. Der essigätherischen Lösung kann dann das Urobilin, aber nicht das Urobilinogen durch Wasser entzogen werden. Doch ist die Trennung nicht quantitativ. Auch in Chlorhydrin sind die beiden Substanzen leichter als in Wasser löslich. Der ätherischen Lösung können sie durch Wasser entzogen werden, dem Alkali im Ueber-

schuß zugesetzt ist. Jedoch ist diese Art der Ueberführung ins Wasser dann nicht zu empfehlen, wenn die Farbstoffe darnach aus dem Wasser ausgesalzen werden sollen. Dabei lösen sie sich in dem Aether, der ja in nicht unerheblicher Menge im Wasser beim Ausschüteln zurückbleibt.

Aus der alkalischen, wässrigen Lösung fällt beim Ansäuern mit dem Urobilin auch sein Chromogen, aber nicht vollständig aus.

Besser dagegen kann das Urobilinogen aus seiner wässrigen Lösung durch **A u s s a l z e n** entfernt werden. Mit großer Leichtigkeit scheidet es sich dabei in großen Flocken ab, die an der Oberfläche schwimmen oder aber zähe der Wand des Gefäßes anhaften. Die Farbe des Niederschlags ist natürlich je nach den Beimengungen verschieden. Im allgemeinen ist er aus saurer Lösung ausgeschieden braun, da er zum größten Teil für gewöhnlich auch aus Urobilin besteht. Aus alkalischer Lösung lassen sich die Farbstoffe bedeutend schlechter aussalzen.

Am besten und vollständigsten fällt sowohl Urobilin wie sein Chromogen aus, wenn man der wässrigen Lösung Ammonsulfat in Substanz zufügt. Ist sie alkalisch, so fallen die Körper erst beim Ansäuern aus, aber dann sofort in kleinen voluminösen Flocken, die auch als klebrig zähe Masse an der Wand des Gefäßes hängen bleiben. Daß andere Farbstoffe ebenso schwer in der gesättigten Lösung dieses Sulfats löslich sind, beweist das fast wasserhelle Filtrat.

Weniger vollständig werden die Farbstoffe entfernt mit Glaubersalz, noch etwas weniger, aber doch noch sehr gut, mit Bittersalz. Selbst hier zeigt das Filtrat mit dem Benzaldehyd nur eine ganz schwache Rosafärbung. Bedeutend weniger salzt aus Kaliumsulfat, das von den Chloriden des Natriums, Kaliums und Ammoniums übertroffen wird. Deren Filtrat zeigt,

mit dem Ehrlichschen Reagens versetzt, ungefähr die gleiche Stärke des Rot, wie die filtrierte Magnesiumsulfatlösung. Zwischen den Chloriden besteht insofern ein Unterschied, als durch Kochsalz und Kaliumchlorid Urobilinogen etwas besser, durch Salmiak Urobilin besser abgeschieden wird.

Ich verarbeitete, um größere Mengen von Urobilinogen zur Verfügung zu haben, bei diesen Versuchen Fistelgalle, die einige Tage bei Brutofentemperatur aufbewahrt war. Sie wurde mit Essigäther ausgeschüttelt, dieser im Vacuum verjagt, der Rückstand mit schwach alkalischem Wasser aufgenommen. Setzte ich ihm Calciumchlorid zu, so erhielt ich einen dicken, braunen Niederschlag (Calciumhydroxyd und Calciumsalz der Gallensäuren?), sättigte ich dann mit Calciumchlorid und filtrierte die alkalische Lösung, so zeigte der Niederschlag starke Urobilin- und Urobilinogenreaktion, das Filtrat dagegen nur mit Zinkacetat Fluoreszenz und Urobilinstreifen, mit dem Benzaldehyd aber keine Reaktion. Dies ist der einzige Fall, wo sich das Urobilin als leichter löslich erwies als sein Chromogen. (Vergl. dazu unten.)

Zusammenfassend möchte ich sagen: durch Ausfällen läßt sich Urobilin von seinem Chromogen nicht trennen; dagegen eignet sich diese Methode ausgezeichnet, um die beiden Stoffe aus ihrer wässrigen Lösung zu entfernen. Am besten bewährt sich dabei Einfügen von festem Ammoniumsulfat in die Lösung.

Niedergeschlagen wird Urobilinogen, wie viele Harnfarbstoffe, durch verschiedene unlösliche Verbindungen. Doch gerade hier zeigt sich die entschieden größere Löslichkeit des Chromogens wie die des Urobilins.

Denn während basisches oder neutrales Bleiacetat, dem Harn zugesetzt, das Urobilin mitreißt, bleibt das Urobilinogen in Lösung. Dies bestätigt folgender Ver-

such: 100 ccm Harn wird eine 20⁰/₀ Bleiacetatlösung solange zugesetzt, bis beim weiteren Hinzufügen kein neuer Niederschlag mehr entsteht. Darauf wird filtriert und der Niederschlag mit heißem Wasser gewaschen. In ihm fällt die Aldehydreaktion negativ aus, desgleichen im Waschwasser. Das Filtrat dagegen wird ziemlich stark rot beim Anstellen der Reaktion.

Das gleiche Resultat bekam ich bei Zusatz einer 5⁰/₀ Silbernitratlösung. Auch hier war das Urobilinogen nicht mit niedergeschlagen. Auch Baryumsalze fällen das Chromogen gar nicht, das Urobilin allerdings auch nur aus sehr konzentrierten Lösungen. Versetzte ich nach den Angaben von Fr. Müller (45) 100 ccm Harn mit einer Mischung von einem Teil gesättigter Chlorbaryum- und zwei Teilen gesättigter Baryumhydroxydlösung, so enthielt der Niederschlag — der zweckmäßig in heißer Lösung bereitet wird, um beim Filtrieren keine Zeit zu verlieren, — nie Urobilinogen, dagegen das Filtrat, aus dem es zusammen mit Urobilin durch Ammoniumsulfat jetzt ausgesalzen werden kann. Vorher ist natürlich der überflüssige Baryt durch Natriumsulfat zu entfernen.

Der Calciumniederschlag hält einen Teil des Urobilins fest, 100 ccm Harn wurden mit 30 ccm einer 10⁰/₀ Lösung von Calciumchlorid und darauf mit Natronlauge versetzt, bis alles Calcium ausgefällt war. Der gewaschene Niederschlag zeigt noch eine schwache Rotfärbung, das Filtrat allerdings eine drei- bis viermal so starke mit dem Aldehyd. Zu dem gleichen Resultat gelangte ich bei dem im Harn aus Ammoniumoxalat und Calciumchlorid erzeugten Niederschlag.

Der in mineralsaurer Lösung mit Phosphorwolframsäure erzeugte Niederschlag gibt mit dem Aldehyd, ebenso wie das Filtrat, eine violette Färbung. Das Verhalten des Urobilinogens dem Phosphorwolfram-

säureniederschlag gegenüber konnte ich also nicht feststellen, legte aber auch keinen Wert darauf. Denn das Verfahren der Urobilindarstellung, das Salkowski (60) auf die Fähigkeit des Phosphorwolframniederschlages, Urobilin mitzureißen, gründet, läßt sich auf Urobilinogen aus dem Grunde schon nicht anwenden, weil der auf Urobilin zu verarbeitende Bleiniederschlag ja kein Chromogen enthält.

Klinisch von Bedeutung dürfte die Tatsache sein, daß das Uratsediment Urobilin mitreißt, das Chromogen aber nicht. Leider wird der Farbstoff aber nicht quantitativ mitgerissen, ein großer Teil bleibt noch in Lösung. Die Schlesingersche Zinkacetatprobe ist also jedenfalls an einem Harn anzustellen, dem die Urate nicht durch Filtration entzogen sind.

III. Farbenreaktionen des Urobilinogens.

Von besonderer Wichtigkeit sind in Ermanglung anderer die Farbenreaktionen, die das Chromogen gibt. Die eine besteht darin, daß Urobilinogen in mineral-saurer Lösung mit dem Ehrlich'schen p-Dimethylamidobenzaldehyd eine schöne und intensive Rotfärbung gibt. Es ist dies die schon so häufig genannte Reaktion. „Die volle Intensität der Reaktion erhält man erst beim Aufkochen, wenngleich manche Harne auch schon in der Kälte sich deutlich röten.“ Hat man eine sehr dünne Urobilinogenlösung mit dem Aldehyd versetzt, so kann man regelmäßig die Beobachtung machen, daß auch trotz Aufkochens die volle Intensität der Färbung erst nach einigen Minuten erreicht ist.

In welcher Weise die beiden Körper auf einander einwirken, ist noch nicht sicher gestellt. Daß die Aldehydgruppe reagiert, ist dadurch leicht zu beweisen, daß eine Urobilinogenlösung mit Formaldehyd oder einem anderen aliphatischen Aldehyd versetzt, mit dem Benzaldehyd nicht mehr reagiert. Diese „Verstopfung“

durch den Formaldehyd hatte schon Ehrlich (13) und gleichzeitig Nicolaier gefunden und alle späteren Untersucher konnten diese Tatsache bestätigen. Die Reaktion muß also an das Aldehydradical im Benzaldehyd gebunden sein. Die Reaktion wurde vor 6 Jahren von P. Ehrlich (13) im Harn aufgefunden, als er diesen mit dem Reagens versetzte. Er ließ sich damals von dem Gedanken leiten, daß eine Aldehydgruppe ein sehr reaktionsfähiges Radical ist und gerade dieses Substitutionsprodukt in der Farbstofftechnik ein bekannter Körper war. Welcher im Harn vorkommende Körper mit dem Aldehyd reagierte, blieb trotz eifriger Forschung noch längere Zeit unbekannt. So versuchte Pröschner (55) den Farbstoff aus dem Harn zu isolieren. Ohne allerdings eine Gewähr für die Reinheit seines Präparates zu haben, unterwarf er seinen Farbstoff der Analyse und Molekulargewichtsbestimmung. Er erhielt nach Abzug des Dimethylamidobenzaldehyds einen Körper von der Zusammensetzung $C_7 H_{15} O_6 N$. „Diese Formel steht der des Glukosamins am nächsten und unterscheidet sich nur durch einen Mehrgehalt von COH_2 von derselben. Ob der Körper ein Formylglukosamin oder das Aethylderivat des noch unbekanntenen Pentosamins darstellt, darüber müssen weitere Untersuchungen entscheiden.“ (Pröschner 55). Clemens (9) stellte sich darauf Glukosamin nach Ledderhose dar. „Der reine Körper gab die Reaktion nicht.“ Da aber die Konstitution dieses Körpers nicht ganz feststeht, so versuchte der gleiche Autor die Reaktion des Aldehyds mit Glukosamin, Fructosamin, Lactosamin, nach Lobry de Bruyn gewonnen. Keiner dieser Körper gab eine positive Reaktion. Diese Beobachtung bestätigte Neubauer (48). Glukosamin gibt keine Reaktion, ebenso das nach Fr. Müller dargestellte pentaacetylierte Glukosamin. Erst nach Vorbehandlung mit Alkali (Abspaltung der Acetylgruppen?) geben die acetylierten Glukosamine eine positive Aldehydreaktion, und zwar sowohl das pentaacetylierte als auch die Mono- und Diacetylderivate. Neubauer versuchte vergeblich den bei der Alkalibehandlung des acetylierten Glukosamins entstehenden Körper zu isolieren, der Versuch scheiterte an seiner großen Zersetzlichkeit. „Jedenfalls wäre die Bildung eines Pyrrolringes auch biologisch interessant. Wenn die im Körper so reichlich vorgebildeten acetylierten Glukosamine wirklich so leicht in Pyrrol-derivate übergehen, so wäre die Möglichkeit eines Aufbaues des Blutfarbstoffes aus diesen Substanzen ins Auge zu fassen.“ Eine derartige Reaktion ist noch nicht bekannt, die Möglichkeit jedoch ist zuzugeben. Dem Glukosamin nahestehende Körper können leicht im Organismus vorkommen. Denn E. Fischer (20) hat

das Glukosamin synthetisch durch Reduktion der aus Arabinose gebildeten Glukosaminsäure erhalten. Im Glukosamin befindet sich die Amidogruppe also auch in α Stellung; damit steht seine nahe Beziehung zu den α Aminosäuren, im Eiweißmolekül vorgebildeten Kernen, fest. Glutaminsäureäthylester, also ein dem Glukosamin nahestehendes α Amidosäurederivat, bildet kein Diketopiperazin wie andere Ester der α Amidosäuren, sondern geht leicht in den Ester der Pyrrolidoncarbonsäure über.

Neubauer konnte damals feststellen, daß die Harnreaktion auf Urobilinogen zurückzuführen war. Denn frische Urine, die kein Urobilinspektrum aufwiesen, aber eine starke Ehrlichsche Reaktion zeigten, dunkelten beim Stehenlassen nach unter Auftreten des Urobilinstreifens, und proportional damit verschwand die Aldehydreaktion mehr und mehr. Jetzt war auch klar, warum normaler Stuhl stets eine intensive rote Färbung mit dem Reagens gab. (Clemens [9]). Urobilinogen ist aber indirekt ein Abkömmling von Haematin. Und dementsprechend untersuchte Neubauer Blut- und Blattfarbstoffderivate. Seine Angaben bezüglich der aus Haematin bereiteten Produkte kann ich nur bestätigen. Haematin, Haemin, Haematoporphyrin, Bilirubin, Urobilin geben mit dem Benzaldehyd keine Färbung, dagegen Urobilinogen, d. h. der Saille'sche Essigätherextrakt, ferner Haemopyrrol, desgleichen auch eine mit Zink und Salzsäure reduzierte und entfärbte Lösung von Haematin sowohl als auch von Haematoporphyrin. Die bei der Reduktion des in Alkohol gelösten Haematins entstehende farblose Lösung zeigt eine schöne rote Ehrlichsche Reaktion, beim Stehenlassen dunkelt sie nach unter Auftreten des Urobilinstreifens im Blaugrün. Bei der Reduktion von Haematoporphyrin, die am besten in der salzsauren Lösung des Farbstoffes mit Zink stattfindet, entsteht eine blaßrosa gefärbte Lösung, die ebenfalls mit dem Ehrlichschen Aldehyd versetzt, eine starke Rotfärbung mit dem unten näher bezeichneten charakteristischen Spektrum zeigt. Haemopyrrol entsteht bei der Zinkstaubdestillation des Haematins. Beim Stehenlassen an der Luft geht es in einigen Tagen in Urobilin über. Neubauer konnte zeigen, daß es die Aldehydreaktion in intensivster Weise gibt. Dem Haemopyrrol kommt nach den hervorragenden Untersuchungen Küsters (38) höchst wahrscheinlich die dafür von Nencki aufgestellte Konstitutionsformel Methyl-propylpyrrol zu. Es ist als Grundsubstanz für die Reihe der Blut- und Blattfarbstoffe anzusehen, d. h. auch sie müssen Pyrrolabkömmlinge sein.

Daß Indol als Phenylpyrrol mit dem Aldehyd eine Rotfärbung gibt, war seit langem im Ehrlichschen Institut bekannt. In der

chemischen Literatur ist diese Reaktion, d. h. eine Kondensation eines Aldehyds mit Indol schon im Jahre 1887 von E. Fischer (19) niedergelegt. Er erhielt aus einem Molekül aromatischem Aldehyd und zwei Molekülen Indolderivaten Körper, die durch Oxydation in rote Farbstoffe übergangen. In Analogie mit den Leukobasen der Triphenylmethanfarbstoffe nannte er die hier entstehenden Rosindole. In jüngster Zeit fanden Freund und Lebach (22), daß die beiden Körper auch im Verhältnis 1:1 ihrer Moleküle reagieren. Die hierbei entstehenden Monoketole geben bei der Oxydation Farbstoffe, die eine blaue Nuance zeigen. Genauer untersucht hat Noelting (51) unter anderen auch das mit p-Dimethylamidobenzaldehyd entstehende Produkt. Es bildet rotbraune Nadeln vom Schmelzpunkt 226—227°, ist leicht löslich in den gebräuchlichen organischen Mitteln und in Säuren. Es färbt Seide und tannierte Baumwolle rot. Diese Aldehydreaktion mit Indol will Boehme (6) für bakteriologische Zwecke benutzen. Er hält sich zwei Reagentien. Für Nr. I werden 4 Teile p-Dimethylamidobenzaldehyd in 380 Teilen 96% Alkohols gelöst und 80 Teile konzentrierter Salzsäure zugegeben. Reagens II besteht aus einer gesättigten Kaliumpersulfatlösung. Er benützt sie so, daß zu 10 Teilen der Bouillonkultur 5 ccm Reagens I zugesetzt werden und das entstehende Rosindol durch 5 ccm der Lösung II zum Farbstoff oxydiert wird. Den großen Vorteil dieser Reaktion zum Nachweis des Indols als Stoffwechselprodukt verschiedener Bakterien sieht er darin, daß die Ehrlichsche Reaktion nicht nur zehnmal so empfindlich ist als die bisher übliche Nitroindolreaktion, sondern die Rotfärbung tritt auch jedesmal auf, unabhängig von dem relativen Mengenverhältnis der Reagentien.

Skatol oder β -Methylindol hat an seinem Pyrrolring noch ein Wasserstoffatom frei. Dementsprechend kondensiert es sich mit dem Aldehyd. Da Skatol im Stuhl regelmäßig vorkommt und der durch den Aldehyd entstandene Körper eine blaue Farbe zeigt, so fällt die Ehrlichsche Probe im Stuhl nicht so schön rot aus wie im Harn, sondern zeigt mehr ein Violett, jedenfalls immer einen Stich ins Blaue. Die Färbung wird aber stets durch das aus Urobilinogen und Indol entstehende rote Kondensationsprodukt beherrscht. Schmidt und Baumstark (64) haben eine colorimetrische Bestimmung des Indols der Faeces auf diese Aldehydreaktion hin ausgearbeitet. Kimura (36) weist nach, daß sie auf jeden Fall nur dann zu brauchen ist, wenn Indol und Skatol durch Extraktion mit Ligroin von dem in dem Stuhl zurückbleibenden Urobilinogen getrennt werden. Das Mengenverhältnis zwischen Indol und Skatol überwiegt gewöhnlich so

sehr zugunsten des ersteren, daß die durch das Skatol entstehende blaue Farbe das Rot des aus Indol gebildeten Kondensationsproduktes wenig stört. Den mit Ligroin extrahierten Faeces kann dann das Urobilinogen durch Alkohol entzogen und in ihm dieses nachgewiesen werden.

Ein weiteres Pyrrolderivat, das Tryptophan, hat Rohde (58) unter Neubauer dargestellt und seine Reaktionsfähigkeit mit dem Aldehyd untersucht. Er hydrolysierte nach den Angaben von Hopkins und Cole (31) Casein und erhielt die Skatolaminoessigsäure. Durch die neueren Untersuchungen von Ellinger (14) ist jedoch bewiesen, daß dem Tryptophan nicht obige Konstitution zukommt, sondern daß es als Indolalanin aufzufassen ist. Diese Feststellung ist hier insofern von Bedeutung, als jetzt die Möglichkeit vorhanden ist, daß der Aldehyd noch an den Pyrrolkern tritt. Hier ist ja jetzt noch ein reaktionsfähiges Wasserstoffatom vorhanden; bei der Skatolaminoessigsäure ist dieses durch die Methylgruppe ersetzt; der Benzaldehyd müßte also an den Benzolring treten. Skatol und Skatolderivate kommen auch im normalen Harn, wenn auch nur in Spuren, vor; der positive Ausfall der Aldehydreaktion im Harn ist aber sicher nicht auf sie, sondern auf das in viel größerer Menge vorhandene Urobilinogen zurückzuführen. Als Gegenbeweis gegen diese Annahme kann nicht das Experiment Herters (29) gelten, der Affen Skatollösung subcutan injizierte und dann eine vermehrte Aldehydreaktion im Harn erhielt. Abgesehen davon, daß er das Skatol selbst im Harn nicht nachgewiesen hat, läßt sich sein aus frischem Harn gewonnener roter Farbstoff mit Amylalkohol sehr gut extrahieren, während der aus Tryptophan dargestellte in ihm unlöslich ist.

Wir haben also eine Farbenreaktion vor uns, die höchstwahrscheinlich, wie wir bis jetzt sagen können, in einer Kondensation des Benzaldehyds mit einem oder mehreren Pyrrolkernen besteht. Ein Analogon dieser Reaktion haben wir in denjenigen, die Feist (15) schon im Jahre 1902 in seiner Arbeit: „Kondensation von Pyrrolen mit aromatischen Aldehyden“ niedergelegt hat, eine Arbeit, die sehr zu Unrecht bis jetzt in der medizinischen Literatur über die neue Ehrliche Reaktion unbekannt geblieben ist. Er