

Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Niederschlag enthält nach dem Glühen 40,71% Ag.

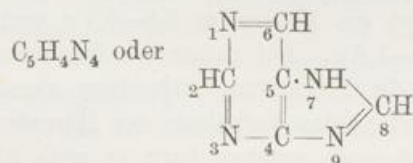
2. Mit einigen Kryställchen stellt man die Schiff'sche Reaktion an (S. 179). Hierbei ist zu bemerken, daß Harnstoff die gleiche Reaktion gibt.
3. Beim Behandeln von etwas Allantoin mit Pepton und konz. Schwefelsäure entsteht eine Violettfärbung, die durch Zusatz eines Tropfens sehr verdünnter Eisenchlorid- oder Platinchloridlösung vertieft wird. Man setzt zur Allantoinlösung ein Stäubchen Wittes Pepton — ja nicht zu viel — und unterschichtet mit konz. Schwefelsäure. Es entsteht dann der violette Ring. Vor dem Spektroskope zeigt die Lösung ein Band im gelben Anteil des Spektrums (Wiechowski, O. Adler, K. Ascher.) Eine für Glyoxylsäure charakteristische Reaktion.
4. Salpetersaures Quecksilberoxyd bewirkt eine Fällung. Bei anhaltendem Kochen wird Fehlingsche Lösung durch Allantoin reduziert.

18. Purinkörper. Harnsäure und Purinbasen, Xanthinbasen.

Mit diesem Namen bezeichnet man, seitdem die genialen Untersuchungen E. Fischers¹⁾ die Ableitung der zu dieser Gruppe gehörenden Substanzen von einer gemeinsamen Muttersubstanz klargelegt haben, eine Gruppe von Verbindungen, die sich von dem Purin ableiten lassen; diese Verbindungen sind fast sämtlich synthetisch dargestellt worden.

Zu diesen Purinkörpern, die früher wegen des in ihnen enthaltenen Alloxankernes Alloxurkörper bezeichnet wurden, gehören die Harnsäure und eine Anzahl von Stoffen, die im tierischen Organismus sich vorfinden und die unter dem seitherigen Namen Xanthinbasen, Nucleinbasen bekannt waren, die man nun aber zweckmäßig als Purinbasen bezeichnen wird.

Die Muttersubstanz, das Purin

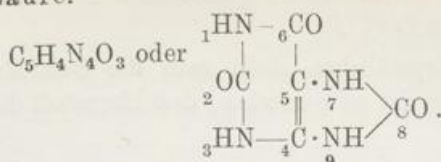


ist eine neungliedrige Kohlenstoff-Wasserstoff-Verbindung, von der sich durch Substitution der Wasserstoffatome die Harnsäure sowohl, wie auch die sämtlichen Purinbasen ableiten und erklären lassen. Das Purin ist gleichzeitig Säure und starke Base, schmilzt bei 216—217°, ist sehr leicht löslich in Wasser und beständig gegen oxydierende Agenzien; bemerkenswert ist die Unlöslichkeit seines Zinksalzes.

¹⁾ Berl. Bericht. 1899. 32. 435—504.

Spaeth, Untersuchung des Harnes. 5. Aufl.

A. Die Harnsäure.



Diese ist aufzufassen als ein Trioxypurin und zwar 2,6,8-Trioxypurin.

Im normalen Harn ist sie größtenteils als saures Natriumurat, in nur geringer Menge als freie Harnsäure vorhanden, die jedoch gelöst bleibt, da Harn größere Harnsäuremengen aufzulösen vermag, als Wasser.

Die Harnsäure ist nach dem Harnstoff der wichtigste stickstoffhaltige, regelmäßige Bestandteil des Harnes, der sich auch in verschiedenen anderen Organen (Lunge, Milz, Leber, Blut usw.) vorfindet. Sie wurde zuerst von Scheele aus dem Harn isoliert. Im Harn der Vögel, der Reptilien nimmt die Harnsäure die Stelle ein, wie der Harnstoff im Harn der Säugetiere; sie ist hier das Endprodukt des Stoffwechsels; beim Menschen ist sie das des Purinstoffwechsels; von den Purinbasen wird nur ein geringer Teil durch den Harn ausgeschieden. Der Mensch vermag die in seinem Körper erzeugte und entstehende Harnsäure nicht weiter zu zersetzen, von den meisten Säugetieren wird sie aber fast vollständig zu Allantoin oxydiert, das im Harn zur Ausscheidung kommt.

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, nach anderen 0,7—0,75, 0,2—1,0, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt in hohem Maße von der Menge und der Art der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Nach H. Laveson wird im Durchschnitt bei Männern 0,680 g, bei Frauen 0,502 g, bei Kindern 0,359 g Harnsäure im Tage ausgeschieden. Bei purinfreier Kost ist die Ausscheidung der Harnsäure (der endogenen) für den Tag und das Individuum eine ziemlich konstante Größe. Durch jede purinhaltige Nahrung wird die Ausscheidung erhöht; so wird in ersterem Falle nur 0,3—0,4 g endogene Harnsäure in 24 Stunden ausgeschieden, bei gemischter Kost steigt die Menge bis 0,5—0,7 g und bei sehr reichlicher Fleischnahrung bis 1—1,4 g. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen soll die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes verlaufen; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchschnitt 1:45, nach anderen kann es noch höher sein; nach Sal-kowski ist 1:40 die Grenze des Normalen, eine Annahme, die vielleicht nicht ganz begründet ist. Bei der linealen Leukämie kann das Verhältnis z. B. von 1:9 beobachtet werden. Das Verhältnis der Harnsäure zum Purinstickstoff ist etwa 8,0—12,0:1.

Das Verhältnis der Harnsäure zu den sauren Phosphaten ist normal 0,2—0,35 (Zerners Koeffizient). Die Harnsäure, im Organismus fast vollständig als Monourat vorhanden, fällt als Niederschlag aus, wenn in dem schwach sauren Harn zu wenig saure Phosphate vorhanden sind, es kann

also durch diesen Koeffizienten die Regelmäßigkeit der Harnsäureausscheidung bestimmt werden (Serkowski). Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden bei Zuständen, bei denen ein größerer Zerfall von Körperweiß und besonders von purinhaltigem stattfindet, so bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnucleins erklären läßt. Hier — bei Leukämie — können in der Tagesmenge des Urins bis zu 5 g zur Ausscheidung kommen. Die Ansicht, daß im Fieber die Harnsäure zunimmt, scheint widerlegt zu sein, ebenso haben neuere Untersuchungen festgestellt, daß die Harnsäureausscheidung im Harn bei Gichtleidenden für die Diagnose nicht zu verwerten ist, da die gefundenen Mengen der hier ausgeschiedenen Harnsäure gar keine Anhaltspunkte geben. Bei der echten Gicht besteht nach Th. Brugsch¹⁾ der Konstitutionsdefekt in einer Störung des Purinstoffwechsels mit verschlechterter Ausscheidungsmöglichkeit der Harnsäure. Je stärker der Gichtkranke mit Purinen belastet wird, je stärker ist die Störung, je größer auch die Anhäufung der Harnsäure im Blute mit allen daraus resultierenden Folgeerscheinungen der Harnsäureablagerungen, gegen die der Körper unter bestimmten Bedingungen reaktionsfähig ist. Die Gichtanfälle stellen nur die Reaktion gegen die abgelagerte Harnsäure vor und kommen einem natürlichen Heilungsvorgange gleich. Es wird für wahrscheinlich gehalten, daß für Gicht eine durch Vererbung erworbene (latente) Diathese besteht. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natrium), von coffeinhaltigen Getränken, bei Phosphorvergiftung, von Radiumemanation, besonders bei Atophan wird eine Vermehrung beobachtet. Vermindert wird die Harnsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, nach Genuß verschiedener Medikamente, wie Chinin, Coffein, Antipyrin, Eisen, Blei, Vinum Colchici, Urotropin, Piperazin und dergl. Eine Verminderung findet weiter statt nach Einnehmen von Nährpräparaten, Kochsalz, alkalischen Wässern, nach dem Genuß von Eiern, Milch, Kirschen. Die Harnsäurebildung wird nicht, wie angenommen, allein durch die Milz, sondern vielmehr hauptsächlich durch die Leber und Muskeln betätigt (Meissner, Minkowski); sie wird wohl in dem Zerfalle von nucleinhaltigen Geweben zu suchen sein.

Nach R. Burian²⁾ soll die Harnsäure aus dem Hypoxanthin, das im Muskel kontinuierlich gebildet wird, entstehen; es soll nur ein recht kleiner Teil der endogenen Harnpurine aus den Nucleinproteiden, abgestoßenen Zellen, dagegen ein sehr großer Teil aus dem Muskelstoffwechsel hervorgehen. Mit endogener Harnsäure bezeichnen Burian und Schur die bei purinfreier

¹⁾ Allgemeine Prognostik. Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1922.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 43. 532.

Kost ausgeschiedene Harnsäure im Gegensatz zu der aus den Nahrungspurinen gebildeten exogenen Harnsäure.

Nach Abderhalden¹⁾ ist durch Untersuchungen der Beweis erbracht, daß der größte Teil der Harnsäure, wenn nicht alle, auf den Abbau der Nucleinsäuren und ihrer Spaltungsprodukte, und zwar auf den der Purinbasen zurückgeführt werden muß, wobei auch verschiedene Enzyme, sog. Desamidierungsenzyme, Amidasen (Adenase, Guanase), mitwirken sollen. Schon Meissner vertrat diese Anschauung.

Nach Th. Brugsch und A. Schittenhelm kann die Harnsäure nur aus den in den Nucleoproteiden enthaltenen Purinbasen entstehen und niemals aus anderen Quellen, wie den Aminosäuren des Eiweißes. In Betracht kommen die Aminopurine Adenin und Guanin und die bereits Produkte des fortschreitenden Stoffwechsels darstellenden Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin. Zur Abwicklung des Nucleinstoffwechsels im Organismus sind mehrere Fermente nötig (Schittenhelm), so die Nuclease, die die Nucleinsäure aufspaltet und aus ihr die Purinbasen freimacht, die Purindesamidase, die die Aminopurine in Oxypurine überführt, die Xanthinoxidase, die wieder die Oxypurine zu Harnsäure oxydiert und das urikolytische Ferment, das die Harnsäure aufspaltet. Als Quellen für die Purine kommen in Betracht die Fleischnahrung (exogene Harnsäurebildung) und die Zellen des Organismus selbst (endogene Bildung der Harnsäure). Nach F. Smetánka²⁾ ist die Harnsäurebildung mit der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen und anderer Organe verbunden; jeder, auch purinfreier, Proteingenuß hat eine erhöhte Harnsäureausscheidung zur Folge.

Bei der Beurteilung der Menge der zur Ausscheidung gelangten Harnsäure hat man in Betracht zu ziehen ihre scheinbare Vermehrung durch übermäßige Arbeit, große Ermüdung, Muskelübung, eine wirkliche Vermehrung nach Leukämie, Lebercirrhose.

Darstellung.

Man gewinnt die Harnsäure am besten nach der beim quantitativen Nachweise angegebenen Methode von Salkowski-Ludwig, auch durch Versetzen des Harnes mit Salzsäure, wie beim Verfahren nach Heintz-Schwanert ausgeführt.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die reine Harnsäure bildet ein weißes, leichtes, geruch- und geschmackloses Pulver, aus rhombischen, durchsichtigen Prismen oder Täfelchen bestehend; aus saurem Harn, ebenso beim Stehenlassen von Harn mit Säuren krystallisiert sie in den verschiedensten, fast stets gelbgefärbten Formen aus (Fig. 38). Dieses Ausscheiden der freien Säure im Harn nach dem Abkühlen findet seine Erklärung in den meisten Fällen in der stattgehabten Umsetzung der sauren Alkalisalze (saure Urate) mit den phosphorsauren

¹⁾ Lehrbuch der physiol. Chem. Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1906.

²⁾ Archiv Physiol. 1911. 138. 217.

Alkalien, indem das saure Phosphat in das Dinatriumphosphat übergeht und die nach Wegnahme eines Teiles des Alkalis des harnsauren Salzes freigewordene Harnsäure sich ausscheidet; daß andere Vorgänge diese Ausscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß darüber noch zu wenig. Die Grundform der Krystalle ist die Wetzsteinform, rhombisches Vertikalprisma; gewöhnlich findet man unter dem Mikroskope große Doppelwetzsteine in Kreuzform, ferner viele miteinander verwachsene, dünnere und längere Wetzsteinformen und Nadeln; häufig finden sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 38); s. auch Sedimente.



Fig. 38. Harnsäure in verschiedenen Formen (250—300fache Vergr.).

Die Harnsäure ist außerordentlich schwer löslich in Wasser, nach den einwandfreien Versuchen von W. His und Th. Paul¹⁾ bei 18° im Verhältnis 1:39480. In wässriger Lösung verhält sich die Harnsäure als einbasische Säure, es existieren in wässriger Lösung nur primäre, einfachsaure Salze

(Biurate). Bei Anwesenheit von starken Basen ist die Harnsäure imstande, unter Bildung sekundärer Harnsäure-Anionen noch ein zweites H-Ion abzusoziiieren und dann sekundäre (neutrale Urate) zu bilden; diese lassen sich nur in fester Form darstellen, in Lösung existieren nur primäre Salze, die sekundären zerfallen hydrolytisch in freies Alkali und in primäres Urat.

Nach Gudzent soll die Harnsäure zwei Reihen primärer Salze bilden, die sich durch ihre Löslichkeitsverhältnisse unterscheiden; die eine (erste) Reihe (a-Salze) soll nach der Lösung infolge einer intramolekularen Umlagerung von der Laktim- in die Laktamform langsam in b-Salze übergehen; die a-Salze sind leichter löslich, die b-Salze beständiger. Die Salze der alkalischen Erden und der meisten Schwermetalle sind sehr schwer löslich; durch salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure (Hupperts Reaktion), auch durch konzentrierte alkoholische Pikrinsäurelösung wird die Harnsäure vollkommen gefällt. Mit Phosphormolybdänsäure entsteht ein krystallisierter, blauer, metallisch glänzender Niederschlag, unterm Mikroskope aus Prismen bestehend. Im normalen Harne ist die Harnsäure stets an Basen gebunden (Natrium, Ammonium) in Form der beiden Salze (neutrale und saure). Unlöslich ist die Harnsäure ferner in kaltem und heißem Alkohol, auch in Äther; reichlicher löst sie sich in warmem Glycerin und in Salzlösungen (Borax, kohlensaure, phosphorsaure und essigsaure Alkalien, Lithiumsalze) bei Gegen-

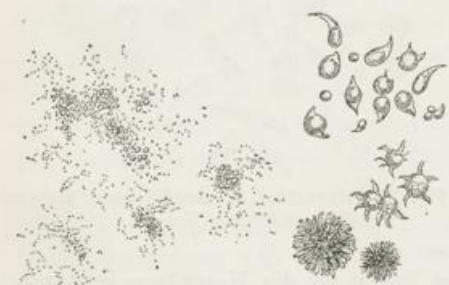
¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900/1901. 31. 41.

wart von Harnstoff, sowie bei Anwesenheit mehrerer organischer Basen, Piperidin, Piperazin, Äthyl- und Propylamin.

Erhitzt zersetzt sich die Harnsäure unter Bildung von Harnstoff, Cyanursäure, kohlensaurem Ammonium und Blausäure; mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure; in neutraler oder alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat, Bleisuperoxyd, Braunstein, Ferricyankalium, Natriumperoxyd u. a. behandelt wird die Harnsäure in Kohlensäure und Allantoin übergeführt; Fehlingsche Lösung wird aus dem gleichen Grunde reduziert (s. Nachweis).

Bei Einwirkung von Natriumhypobromit während längerer Zeit wird etwa die Hälfte des Stickstoffes als Gas abgespalten.

Aus saurem Harn sondern sich beim Stehen gerne saure harnsaure Sedimente ab; saures harnsaures Kalium oder Natrium finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei



Harnsaures Natron (etwa 200fache Vergr.) Harnsaures Ammon (etwa 350fache Vergr.)
Fig. 39.

Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch Uroerythrin, Urochrom, Urobilin noch ziegelrot oder schmutziggelb — wenn die zwei letztgenannten Farbstoffe in Betracht kommen — gefärbt erscheinen (Fieberharn — sedimentum lateritium —), manchmal auch als gelbes, selten weißes Sediment und bilden unter dem Mikroskope moosförmig gruppierte, kleine amorphe Körnchen, bisweilen auch Kugeln und Biskuitformen (Fig. 39).

Nach R. Kohler¹⁾ bilden den Hauptbestandteil des Sedimentum lateritium die Quadriurate, Gemische von primärem Urat mit Harnsäure. Diese sog. Quadriurate oder Tetraurate existieren als Verbindungen nicht.

Die aus den harnsauren Salzen bestehenden Sedimente lösen sich beim schwachen Erwärmen leicht, fallen aber beim Erkalten wieder aus. Das harnsaure Ammonium findet sich im Sedimente von alkalischem Harn in Form gelbgefärbter kugeliger, auch mit Stacheln besetzter Massen; dieses Salz kommt in Phosphatsteinen und Blasenkonkrementen vor (Fig. 39). Aus einer vermehrten Harnsäureausscheidung darf nicht auf eine vermehrte Harnsäuresekretion geschlossen werden.

Der Nachweis der Harnsäure ist ein leichter und sehr charakteristischer.

1. Befeuchtet man eine Spur von Harnsäure oder von einer Harnsäure enthaltenden Salzmasse mit etwas Salpetersäure oder Chlorwasser und läßt — am besten in einem kleinen flachen Porzellschälchen — auf dem Wasserbade völlig eintrocknen, so bleibt meistens schon ein rotgefärbter Rückstand, der auf Zusatz von wenig

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1910. 70. 360; Münch. med. Wochenschr. 1914. 61. 1249.

Ammoniak — man bläst am besten Ammoniakdämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, die auf Zusatz von Natron- oder Kalilauge in violett umschlägt. Beim Erwärmen verschwindet die violette Farbe rasch — Unterschied von Xanthinkörpern. Der purpurfarbene Körper ist Murexid oder purpursaures Ammonium, der durch Kalilauge erzeugte Körper ist purpursaures Kalium. (Murexidprobe von Liebig und Woehler.)

Wird der Verdampfungsrückstand einer Spur Harnsäure mit Salpetersäure oder Bromwasser (Überführen der Harnsäure in Alloxan) mit einigen Kubikzentimetern konzentrierter Schwefelsäure und einigen Tropfen thiophenhaltigen Benzols versetzt und gemischt, so entsteht eine schöne blaue Färbung (G. Denigès).

Bei der Probe nach Denigès darf man das Abrauchen der Salpetersäure, wenn man diese in Anwendung zieht, nicht bis zum Eintreten der Rotfärbung fortsetzen.

2. Ein empfindliches Reagens auf Harnsäure empfehlen O. Folin und W. Denis.¹⁾

100 g wolframsaures Natrium und 80 ccm 85%iger Phosphorsäure werden mit 750 g Wasser zwei Stunden lang am Rückflußkühler gekocht; man läßt erkalten und verdünnt auf 1 Liter. Wenn man 1—2 ccm einer Harnsäurelösung mit 1—2 ccm des Reagens vermischt und im Überschusse gesättigte Sodalösung, 3—10 ccm, zugibt, so entsteht eine blaue Färbung. Das Verfahren wurde zu einem quantitativen, colorimetrischen empfohlen.

3. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn diese nicht im Überschusse vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschusse von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoin oxydiert wird (Babo).

Beurteilung.

Man muß bei dieser letzten Prüfung, da auch Zucker reduziert, vorsichtig sein; alkalische Wismutlösung wird mit Harnsäure nicht schwarz, also nicht reduziert, wie bei Anwesenheit von Zucker.

Auch die Schiffsche Probe (man benetzt einen Streifen Papier mit Silbernitrat und spritzt auf die feuchte Stelle verdünnte Sodalösung; betupft man das so gebildete kohlensaure Silber mit einer Lösung von Harnsäure oder harnsaurem Natrium, so entsteht ein schwarzer Fleck) ist mit Vorsicht aufzunehmen, da diese Reaktion durch eine Reihe anderer Stoffe ebenfalls hervorgerufen werden kann.

Ganassinis Probe beruht darauf, daß eine schwach alkalische Harnsäurelösung mit einem löslichen Zinksalz eine weiße Fällung gibt, die auf einem Filter gesammelt allmählich durch Oxydation besonders im Sonnenlichte lichtblau gefärbt wird.

4. Prüfung unter dem Mikroskope (Fig. 38 u. Sedimente).

Die quantitative Bestimmung der Harnsäure.

Diese Bestimmung ist wohl nur von Wert, wenn sie in einem Teile der sorgfältig gesammelten, in 24 Stunden entleerten Harnmenge und öfters

¹⁾ Journ. of Biol. Chem. 1912. 12. 239.

vorgenommen wird und wenn der Puringehalt der eingenommenen Nahrung bekannt ist, im Falle nicht von seiten des Arztes andere Wünsche bestehen. Ausgeschiedene freie Harnsäure, die sich beim Erwärmen nicht löst, muß berücksichtigt werden. Man filtriert eine Durchschnittsprobe und bestimmt die abgeschiedene Harnsäure gesondert. Diese Menge ist der gelöst vorhandenen und bestimmten Harnsäure zuzuzählen.

1. Methode nach Heintz-Schwanert.¹⁾

Bedingungen.

Eiweißhaltiger Harn muß erst vom Eiweiß befreit werden (s. S. 36), ebenso kann auch zuckerhaltiger Harn keine Verwendung finden, da sich die Harnsäure hier nur unvollkommen abscheidet. Von sehr verdünntem Harn verwendet man 400 ccm und dampft diese auf die Hälfte ein; von Harn mit einem spez. Gew. von 1,020 genügen 200 ccm, von noch konzentrierterem 100 ccm. Hat sich im Harn, worauf vom Beginne jeder Bestimmung besonders zu achten ist, ein Harnsäure enthaltendes Sediment (Urate) abgesetzt, so ist dieses durch Einstellen der Flasche usw. in heißes Wasser wieder in Lösung zu bringen; nach dem Abkühlen des Harnes auf die gewöhnliche Temperatur mißt man erst ab. Über abgeschiedene freie Harnsäure s. oben.

Ausführung.

200 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt, 36—48 Stunden an einem kühlen Orte stehen gelassen und die ausgeschiedenen Krystalle auf einem bei 105—110° getrockneten und gewogenen Filter oder zweckmäßiger im Gooch'schen Tiegel gesammelt; nach dem Auswaschen mit kaltem Wasser — man soll möglichst wenig Wasser (30 ccm) verwenden — bis zur Entfernung der Salzsäure wird das Filter mit Inhalt getrocknet und gewogen. Für je 100 ccm Filtrat und Waschwasser müssen 0,0048 g Harnsäure der gefundenen zugezählt werden, da diese Menge nach den gemachten Versuchen in Wasser gelöst bleibt.

Beurteilung.

Diese Methode liefert, wie schon aus dem Verfahren zu ersehen ist, keine sicheren Resultate, da die Ausscheidung der Harnsäure keine vollständige ist und die Menge der gelöst bleibenden Harnsäure je nach der Beschaffenheit (Konzentration) des Harnes wechselt.

D. Sauzeat²⁾ macht in einer Kritik der Verfahren der Bestimmung der Harnsäure und Xanthinbasen aufmerksam, daß bei der Bestimmung der Harnsäure durch direkte Fällung mit einer Säure die vorherige Entfernung der Phosphate und Mucine erforderlich ist. Er läßt dies durch Zugabe von 25 ccm einer Uranacetatlösung (5 g Uranacetat, 60 ccm 30%ige Essigsäure zu 1 Ltr. mit Wasser) zu 100 ccm Harn bewerkstelligen. 100 ccm des Filtrates werden dann nach dem genauen Neutralisieren mit Natronlauge mit 10 ccm 25%iger Salzsäure versetzt; die nach 48 stündigem Stehen abgeschiedene Harnsäure wird gesammelt usw. Siehe Verfahren von 4a und b.

2. Methode von Salkowski-³⁾Ludwig⁴⁾ mit den von O. Folin und Ph. A. Shaffer⁵⁾ angegebenen Abänderungen.

Prinzip.

Es wird die Harnsäure als Silbermagnesiumsalz ausgefällt und die aus der Silberfällung freigemachte Säure entweder gewogen, nach Kjeldahl bestimmt oder titriert; eiweißhaltiger Harn muß vom Eiweiß befreit werden; bei zuckerhaltigem Harn ist das Verfahren nicht gut anwendbar.

¹⁾ Ann. Chem. Pharm. 1864. 130. 179 und 1872. 163. 153.

²⁾ Journ. Pharm. et Chim. 1912 [7]. 5. 164. 445. 485.

³⁾ Archiv Physiol. 1872. 5. 210; Centralbl. med. Wissenschaft. 1894. 32. 514; Archiv Physiol. 1898. 69. 268.

⁴⁾ Wien. med. Jahrb. 1884. 597. Zeitschr. analyt. Chem. 1885. 24. 637.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung.

Man löst 26 g Silbernitrat in einem Literkolben in Wasser, gibt Ammoniak hinzu, bis der entstehende Niederschlag wieder gelöst wird und füllt mit Wasser bis zur Marke auf.

2. Magnesiamischung.

100 g krystallisiertes Chlormagnesium löst man in einem Literkolben in der genügenden Menge Wasser, setzt Ammoniak hinzu, daß die Mischung stark danach riecht, und dann so viel kalt gesättigte Chlorammoniumlösung, bis der entstandene Niederschlag von Magnesiahydrat wieder gelöst wird; man füllt bis zur Marke auf. Die Lösung muß klar sein.

3. Schwefelalkalilösung nach Ludwig.

15 g Ätzkali oder 10 g Ätznatron, die frei von Salpetersäure und salpetriger Säure sein müssen, werden in 1 Liter Wasser gelöst. Von der gut umgeschüttelten Lösung wird die Hälfte mit Schwefelwasserstoff gesättigt, dann mit der anderen Hälfte vereinigt.

4. Schwefelwasserstoff nach Salkowski.

Die von O. Folin und Ph. A. Shaffer angebrachten Abänderungen sind an den betreffenden Stellen angefügt.

Ausführung.

Der bis zum spezifischen Gewichte von 1,020 verdünnte Harn — man verwendet 200 ccm — wird unter Umrühren in einem Becherglase mit einer Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, die man vorher in einem Becherglase gemischt und mit so viel Ammoniak versetzt hatte, daß das ausgeschiedene Chlorsilber sich wieder löste, versetzt und $\frac{1}{2}$ —1 Stunde ruhig stehen gelassen.

Salkowski scheidet erst durch 50 ccm der Magnesiamischung zu 200 ccm Harn die Phosphate ab, füllt zu 300 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und filtriert sofort durch ein Faltenfilter 225 ccm = 150 ccm Harn ab; dieses Filtrat wird mit 15 ccm einer 3%igen ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man sich nach dem Absetzen des Niederschlages überzeugt, daß die Flüssigkeit Silber im Überschuße enthält. Folin und Shaffer fanden, daß das zuerst angegebene, von Ludwig stammende Verfahren das richtigere ist, da durch das Magnesiumphosphat immer etwas Harnsäure mitgerissen wird, auf 100 ccm normalen Harnes im Mittel etwa 0,002 g Harnsäure.

Dann wird der die Harnsäure enthaltende Niederschlag mit Hilfe eines Saugfilters abfiltriert, wobei der der Becherglaswandung anhaftende Niederschlag nicht auf das Filter gebracht zu werden braucht, 2—3mal mit ammoniakhaltigem Wasser gewaschen und der Filterrückstand mit Hilfe der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurückgebracht; das Filter soll man nicht verletzen. Nun säuert man nach Salkowski mit Salzsäure an und leitet in die ungefähr 200—250 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlage der harnsauren Silbermagnesia bis zur Sättigung Schwefelwasserstoff ein und zwar, nachdem man vorher (nach Shaffer und Folin) 5—10 ccm einer 1%igen Kupfersulfatlösung zugesetzt und die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt hat. Das Kochen wird einige Minuten nach der Sättigung mit Schwefelwasserstoff fortgesetzt und die heiße Flüssigkeit durch das schon benutzte Filter vom Silbersulfid abfiltriert; der Niederschlag wird mit heißem Wasser ausgewaschen.

Auf diese Weise erhält man vollkommen klare Filtrate, aus denen sich durch das nachherige Eindampfen kein Silbersulfid mehr abscheidet; nach Ludwig wird, aber weniger zweckmäßig, in alkalischer Lösung durch Schwefelalkalilösung entsilbert; es werden 20 ccm dieser Lösung mit der gleichen Menge Wassers verdünnt und zum Sieden erhitzt; diese Lösung wird durch das bereits benutzte Filter in das Becherglas mit dem Niederschlage filtriert. Man wäscht mit heißem Wasser nach, erwärmt das Becherglas mit Inhalt auf dem Wasserbade — zu langes und starkes Erhitzen ist zu vermeiden, da die Harnsäure in alkalischer Lösung bei Zutritt von Luft teilweise zu Uroxansäure oxydiert wird — und filtriert nach dem Erkalten durch das gleiche Filter in eine Krystalli-

sier- oder Porzellanschale; bei diesem Verfahren ist es mißlich und schwierig, alles Silbersulfid aufs Filter zu bringen; beim späteren Eindampfen scheidet sich manchmal noch Silbersulfid aus, auch kann durch das Schwefelalkali leicht eine Spur Harnsäure zersetzt werden.

Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbade in einer Porzellan- oder Krystallisierschale (auch Becherglas) bis auf wenige Kubikzentimeter (etwa 10 ccm) ein, fügt 5—10 Tropfen Salzsäure hinzu, läßt 12 Stunden stehen und sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag entweder auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter oder im Gooch'schen Tiegel, oder in einem mit Asbest gefüllten sog. Zuckerröhrchen (Allihn), indem man das Filtrat benutzt, um die letzten Teile der ausgeschiedenen Harnsäure aufs Filter zu bringen. Man wäscht schließlich mit kleinen Mengen Wasser nach, bis das Filtrat keine Chlorreaktion mehr gibt und mißt die Menge des Filtrates und des Waschwassers, die zusammen nicht mehr wie 50—60 ccm betragen sollen. Man wäscht noch 2mal mit absolutem Alkohol, dann mit Äther und wägt nach dem Trocknen.

Hat man nach Ludwig mit Schwefelalkali gearbeitet, dann wäscht man den Filtrerrückstand nach dem Waschen mit Alkohol einige Male mit frisch rektifiziertem Schwefelkohlenstoff und hierauf mit Äther.

Für je 10 ccm Waschwasser hat man noch 0,00048 g Harnsäure der gewogenen hinzuzuzählen.

Die abfiltrierte Harnsäure kann man auch nach Kjeldahl verbrennen und den Stickstoffgehalt bestimmen (S. 169). Ebstein, Bödtker, Geelmuyden führten in dieser Weise die Bestimmung aus. Stickstoff · 3 = Harnsäure.

Folin und Shaffer, ebenso G. H. Poulin¹⁾ empfehlen, die Harnsäure zu titrieren, statt zu wägen; man braucht dann gar nicht die letzten Spuren Harnsäure auf das Filter zu bringen, sondern kann diese direkt in das Becherglas spülen, mit Hilfe von ein wenig Natronlauge (man verwende kein durch Alkohol gereinigtes Ätznatron) lösen und nach Schwefelsäurezusatz mit Permanganat titrieren (S. 220).

Beurteilung.

Die Methode liefert, in der angegebenen Weise vorgenommen, recht gute Resultate. Xanthin wird auch als Silberverbindung ausgefällt, auch ist dieses in Wasser schwer löslich, so daß ein Teil als Harnsäure gewogen wird; doch ist dieser Fehler bei den geringen vorhandenen Mengen an Xanthin im Harne nicht von Belang.

3. Methode der Harnsäurebestimmung durch Wägen der Harnsäure nach F. G. Hopkins.²⁾

Prinzip.

Die Harnsäure wird als Ammoniumurat abgeschieden und die aus dieser Verbindung freigemachte Harnsäure zur Wägung gebracht.

100 ccm Harn werden in einem Becherglase mit 30 g pulverisiertem reinem Ammoniumchlorid versetzt — das Ammoniumurat ist nur in einer ganz oder nahezu ganzgesättigten Ammoniumchloridlösung unlöslich —; das Salz wird durch Umrühren mit einem Glasstabe in Lösung gebracht und

¹⁾ Thèse de Lille 1901; Zeitschr. analyt. Chem. 1902. 41. 392.

²⁾ Proc. of the Lond. roy. Soc. 1893. 52. 93.

das Becherglas mit Inhalt über Nacht (— die meist angegebene Zeit von $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden reicht nicht aus —) an einem kühlen Orte stehen gelassen. Das nach dieser Zeit abgeschiedene Ammoniumurat wird auf einem Filter gesammelt, hierbei wird aber die überstehende Flüssigkeit zuerst vorsichtig, ohne den Niederschlag aufzurühren, durch das Filter gegossen — es kommt vor, daß das Ammoniumurat anfangs auf der Flüssigkeit sich befindet, durch gelindes Schütteln und Bewegen des Becherglases fällt das Urat zu Boden — und der Niederschlag mit einer kaltgesättigten Chlorammoniumlösung oder einer 10%igen Ammoniumsulfatlösung (s. Beurteilung) nachgewaschen. Den Inhalt des Filters spritzt man nach dem Durchstoßen des Filterchens mit Wasser in eine Porzellanschale oder in ein kleines Becherglas, gibt etwa 2 ccm 25%iger Salzsäure hinzu, dampft auf etwa 10—15 ccm auf dem Wasserbade ein, läßt erkalten und sammelt die ausgeschiedene Harnsäure in der S. 218 angegebenen Weise. Nach dem Trocknen des Filters mit Inhalt bei 105—110° wird gewogen. Für je 15 ccm Filtrat — dieses kann man zweckmäßig in einem graduerten Zylinder auffangen — hat man dem Gewichte der Harnsäure 1 mg zuzuzählen.

Beurteilung.

Diese Methode ist einfach in der Ausführung und gibt gute Resultate; die Acidität des Harnes darf keine zu große sein, sonst fällt das Ammoniumurat nicht aus; man wird stark saure Harnen so weit neutralisieren, daß nur schwach saure Reaktion vorliegt. In dem auf dem Filter gesammelten Ammoniumurat kann die Harnsäure auch titrimetrisch bestimmt werden. Es muß aber dann das Ammoniumurat auf dem Filter mit 10%iger, von Chlor und Ferrosalz vollkommen freier Ammoniumsulfatlösung solange ausgewaschen werden, bis das Filtrat chlorfrei ist, da Salzsäure bei der Titration mit Permanganat bekanntlich stört. (Siehe Methode Nr. 4, a).

Eine größere Anzahl von Arbeiten beschäftigt sich mit der Abscheidung der Harnsäure aus dem Harn in Form ihres Zinksalzes, so M. Siegfried¹⁾, Bellocq²⁾, D. Sauzeat³⁾, E. Salkowski⁴⁾, M. Kashiwabara⁵⁾, F. Lucien, F. L. Morris⁶⁾. Die Verfahren gipfeln darin, daß aus dem schwach alkalisch gemachten Harn durch Zinksulfat, auch Zinkchlorid die Harnsäure ausgefällt und aus dem ausgewaschenen Zinkurat durch Salzsäure die freie Harnsäure abgeschieden wird, die entweder zur Wägung kommt oder titrimetrisch bestimmt wird.

Vorteile vor den Verfahren, bei denen die Abscheidung der Harnsäure in Form des Ammoniumsalzes erfolgt, besitzen diese Verfahren kaum.

4. Titrimetrische Bestimmungsmethoden.

a) Titrimetrische Bestimmung nach Hopkins, modifiziert von O. Folin und Ph. A. Shaffer.⁷⁾

Prinzip.

Die Harnsäure wird als Ammoniumurat abgeschieden und dieses nach Zusatz von Schwefelsäure mit Permanganat titriert.

Allgemeines über die Methode.

Folin und Shaffer haben die Hopkinsche Ammoniumsulfatmethode in der nachstehenden Weise gestaltet, nachdem sie im Laufe zahlreicher Untersuchungen den Grund gefunden hatten, weshalb es bei manchen Harnen unmöglich war, die nach Salkowski oder Hopkins ermittelten Werte auch durch direktes Titrieren der Ammoniumsalzfällungen zu erhalten; der Grund war

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1898. **24**. 398.

²⁾ Journ. Pharm. Chem. 1900. **12**. 103.

³⁾ Journ. Pharm. et Chim. 1912. [7]. **5**. 164. 445. 485.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1913. **85**. 346.

⁵⁾ Ebenda 1913. **84**. 223.

⁶⁾ Journ. Biol. Chem. 1919. **37**. 231.

⁷⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. **32**. 552.

der, daß ein in manchen Harnen vorkommender Körper — die Verf. nehmen an, daß es sich vielleicht um die von K. Mörner erwähnte Mucoidsubstanz handelt, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein kann — durch geringe Mengen Ammoniumsalze gefällt wird und auch Kaliumpermanganat reduziert. Sie haben durch Versuche mit diesem isolierten Körper gefunden, daß er durch Ammoniumchlorid quantitativ gefällt wird, daß er in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich ist und die Biuretreaktion gibt; in saurer Lösung wird er durch Ammoniumsulfat gefällt, indem bei solchen Harnen eine flockige, allerdings schwer sichtbare Fällung entsteht. Da dieser Körper sich schwer filtrieren läßt, so muß in der sauren Lösung gleichzeitig noch ein anderer Niederschlag erzeugt werden, um das Filtrieren zu erleichtern; eine solche gut abzufiltrierende, bei saurer Reaktion entstehende Fällung wird durch Zusatz von etwas Uranacetat erzeugt. Die Ammoniumsulfatmethode gestaltet sich nun in folgender Weise.

Erforderliche Lösungen.

1. 500 g Ammoniumsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10%iger Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm Wasser gelöst. Das Volumen der so erhaltenen Lösung ist fast genau 1 Liter.

2. 10%ige Ammoniumsulfatlösung.

3. $\frac{n}{20}$ Permanganatlösung.

Ausführung.

75 ccm der Lösung 1 werden mit 300 ccm Harn gemischt und in einem nicht zu weiten Zylinder 5 Minuten stehen gelassen, worauf man durch ein Faltenfilter filtriert und 125 ccm vom Filtrate = 100 ccm Harn in ein Becherglas abmißt. Dem Becherglasinhalte setzt man 5 ccm konzentrierten Ammoniaks zu und läßt die Lösung nach dem Umrühren bis zum nächsten Tage stehen. Von dem nun am Boden des Becherglases abgesetzten Ammoniumurat wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig auf ein Filter (Schleicher u. Schüll Nr. 597) gegossen, zuletzt wird das Ammoniumurat mit 10%iger Ammoniumsulfatlösung auf das Filter gespült und einige Male gewaschen. Den Inhalt des Filters spritzt man mit Wasser in das Becherglas, und zwar empfiehlt es sich, beim Zurückspülen des Urates in das Becherglas das Filter zuerst aus dem Trichter zu nehmen und zu öffnen, anstatt dasselbe nur mit dem Glasstabe zu durchstoßen. Dem Ammoniumurat, in annähernd 100 ccm Wasser aufgeschlemmt, wird 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt und die erhaltene Lösung sogleich mit $\frac{1}{20}$ n-Permanganatlösung (1,582:1 Liter) titriert. Gegen das Ende der Titration ist es zweckmäßig, die Kaliumpermanganatlösung in Portionen von je 2 Tropfen zufließen zu lassen, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist.

1 ccm $\frac{1}{20}$ n-Permanganatlösung = 0,00375 g Harnsäure.

Die Permanganatlösung kontrolliert man mit Oxalsäure. Eine Korrektur von 3 mg Harnsäure für je 100 ccm des angewendeten Harnes ist wegen der Löslichkeit des Ammoniumurates anzubringen, 3 mg sind der gefundenen Harnsäure zuzuzählen.

Beurteilung.

Die von den Autoren erhaltenen Zahlen stimmen mit den nach der Methode von Salkowski-Ludwig erhaltenen überein. Ich habe ebenfalls gute Resultate mit dieser Methode erzielt. Am besten führt man die Bestimmung doppelt aus; man mißt vom Filtrate noch weitere 125 ccm (= 100 ccm Harn) ab und verfährt, wie angegeben.

Ikterische Harnen — überhaupt stark gefärbte Harnen — müssen zuerst durch Zusatz von etwas Eiweißlösung und Aufkochen entfärbt werden.

b) Aufrecht¹⁾ läßt 25 ccm eiweißfreien Harn auf etwa 5 ccm auf dem Wasserbade eindampfen und diesen Rückstand in ein von Goedecke u. Cie. in Berlin N. zu beziehendes Zentri-

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. 627 u. 1911. 48. 879.

fugenröhrchen füllen und mit Wasser bis zur Marke U nachspülen; bis zur Marke R wird eine gesättigte Lösung von Ammoniumchlorid (35:100) zugefügt. Nach dem Mischen und Abkühlen wird etwa 3–5 Minuten lang zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird vorsichtig abgegossen, das Sediment mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals zentrifugiert; man gießt die klare Flüssigkeit ab und wiederholt dieses Waschen und Zentrifugieren mit Ammoniumsulfatlösung noch einige Male, um den Niederschlag chlorfrei zu erhalten; den aus Ammoniumurat bestehenden Niederschlag löst man in etwa 10 ccm einer erwärmten 1%igen Natriumcarbonatlösung, spült das Röhrchen gut nach, säuert mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure an, erhitzt zum Sieden und titriert rasch mit $\frac{1}{100}$ n-Permanganatlösung bis zur Rotfärbung. 1 ccm $\frac{1}{100}$ Lösung = 0,74 mg Harnsäure. Eiweiß muß vorher durch Essigsäure in bekannter Weise abgeschieden werden. Harne, die sog. Mucoidstoffe enthalten, die auch durch Ammoniumchloridlösung gefällt werden, sind erst von diesen zu befreien; man läßt 100 ccm Harn mit 25 ccm einer sauren Ammoniumsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammoniumsulfat, 5 g Uranacetat, 60 ccm 10%iger Essigsäure werden durch Zusatz von 650 ccm Wasser gelöst) 5 Minuten stehen und nimmt vom Filtrate 25 ccm (= 20 ccm Harn), die man mit 1 ccm 10%igen Ammoniaks versetzt und auf etwa $\frac{1}{5}$ eindampft; dann verfährt man weiter, wie angegeben.

Nach G. Gregor¹⁾ ist dieses Verfahren für eine rasche und annähernde Bestimmung brauchbar. Nach A. Stephan²⁾ werden durch die Anwesenheit von Mucoidsubstanzen im Harn Fehler entstehen können. R. Schmiedel³⁾ hält das Aufreichteche Verfahren für das für die Praxis am meisten geeignete.

c) G. Guerin⁴⁾ verfährt in folgender Weise:

In 100–125 ccm Harn löst man 1 g trockenes Natriumcarbonat und filtriert. Man erhält einen Niederschlag von Erdphosphaten, dessen Volumen etwa so groß ist, wie die Volumenvermehrung durch den Sodazusatz.

Zu 100 ccm des Filtrates gibt man 25 ccm einer Lösung von 50 g Ammoniumnitrat in Wasser zu 100 ccm, fügt 5 ccm Ammoniak hinzu und läßt über Nacht stehen; das abgeschiedene Ammoniumurat wird auf einem Filter gesammelt, mit einer 10%igen Ammoniumnitrat und 1% Ammoniak enthaltenden Lösung nachgewaschen und der Niederschlag mit ungefähr 100 ccm Wasser in einen Erlenneyerkolben gespült. Nach Zugabe von 40 ccm $\frac{1}{2}$ n-Schwefelsäure erhitzt man auf 50° und fügt Permanganatlösung (1,5 g:1 Ltr.) unter Umrühren bis zur Rotfärbung hinzu. Verbrauchte Kubikzentimeter Permanganatlösung mit 0,00356 multipliziert = Harnsäure in 100 ccm Harn.

Im Harn ausgeschiedene Harnsäure muß selbstverständlich durch Erwärmen des Harnes gelöst werden.

d) Die nach Hopkins Methode abgeschiedene Harnsäure kann auch durch Titrieren mit einer $\frac{1}{20}$ n-Piperidinlösung nach Tunnicliffe und Rosenheim⁵⁾ bestimmt werden. Die Bestimmung ist eine genaue.

Erforderliche Lösung.

Eine $\frac{1}{20}$ n-Piperidinlösung, im Liter 4,25 g Piperidin enthaltend; man stellt die Lösung unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator mit einer $\frac{1}{20}$ oder $\frac{1}{10}$ n-Säure ein.

Ausführung.

Man erhitzt die abgeschiedene, mit Alkohol gewaschene Harnsäure in einem Becherglase mit ungefähr 15–20 ccm heißen Wassers, setzt einige Tropfen Phenolphthalein zu und titriert die heiße Flüssigkeit mit der $\frac{1}{20}$ n-Piperidinlösung, bis vollkommene Lösung der Harnsäure erfolgt ist und die Flüssigkeit eine bleibende Rotfärbung zeigt.

1 ccm $\frac{1}{20}$ n-Piperidinlösung = 0,0084 g Harnsäure.

Die Harnsäure kann man auch mit Lauge gegebenfalls nach vorherigem Versetzen mit neutralisiertem Formaldehyd (Soerensen) unter Verwendung von Methylorange als Indikator titrieren. Die Harnsäure reagiert hierbei als einbasische Säure, 1 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge = 0,0168 g Harnsäure.

F. Flatow empfiehlt in ähnlicher Weise vorzugehen.

e) Nach C. A. Ronchèse⁶⁾:

Prinzip.

Die Methode beruht darauf, daß Harnsäure in Gegenwart von Borax, Kalium- oder Ammoniumcarbonat bei gewöhnlicher Temperatur durch Jod oxydiert wird.

1 Mol. Harnsäure = 2 Mol. Jod.

¹⁾ Zeitschr. allgem. österr. Apoth.-Ver. 1912. 50. 531.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1911. 48. 837.

³⁾ Südd. Apoth.-Ztg. 1914. 54. Nr. 1.

⁴⁾ Journ. d. Pharm. et Chem. 1906. [6] 23. 516.

⁵⁾ Zentralbl. Physiol. 1897. 11. 434.

⁶⁾ Journ. d. Pharm. et Chem. 1906. [6] 23. 336.

Ausführung.

Man versetzt 100 ccm Harn mit 15 ccm Ammoniak und 15 g Chlorammonium und läßt $\frac{1}{2}$ Stunde stehen. Man filtriert das ausgeschiedene Ammoniumurat ab, wäscht den Niederschlag mit einer Lösung, aus 150 ccm Ammoniak, 150 g Chlorammonium und 700 g Wasser bestehend, aus, spritzt ihn vom Filter ab, suspendiert ihn in Wasser und bringt ihn durch etwas verdünnte Essigsäure in Lösung. Zur Lösung gibt man 20 ccm einer gesättigten Lösung von Borax und Kaliumbicarbonat und titriert mit einer $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung und nach Zusatz von Stärkelösung in bekannter Weise, bis die Flüssigkeit deutlich blau gefärbt ist.

Verbrauchte Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung $\cdot 0,084 + 0,01 =$ die im Liter Harn enthaltene Harnsäure.

Beurteilung.

Zum Absetzenlassen des Ammoniumurates muß man länger stehen lassen. Ob die Methode genaue Werte gibt, ist zu bezweifeln.

P. P. Pizzorno¹⁾ empfiehlt eine ähnliche Methode, ebenso Repiton. Nach H. Caron²⁾, C. J. Reichardt³⁾, T. Gigli⁴⁾ sind diese Verfahren nicht fehlerfrei.

f) Titrimetrische Bestimmung der Harnsäure für klinische Zwecke durch Formoltitration nach A. Kowarsky.⁵⁾

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Abscheidung der Harnsäure als Ammoniumurat nach Hopkins (S. 218); die Menge des durch die Harnsäure gebundenen Ammoniaks wird durch Formoltitration bestimmt und aus dem Ergebnis die Harnsäure berechnet.

Ausführung.

Man bringt 5—6 ccm Harn in ein Reagenzglas, setzt eine kleine Messerspitze Natriumcarbonat hinzu zur Erzielung einer schwach alkalischen Reaktion und erwärmt bis zum Aufkochen; hierauf wird abgekühlt und filtriert; vom klaren Filtrate mißt man mit einer Pipette genau 2,0 ccm ab, bringt sie in ein trockenes Zentrifugenglas und setzt 0,6 g Ammoniumchlorid hinzu, am besten mit Hilfe eines Trichters, damit die kleineren Krystalle nicht an den Wänden des Glases hängen bleiben. Man rührt leicht um, bis sich alles gelöst hat und läßt 2—4 Stunden stehen. Dann wird kräftig abzentrifugiert, die Flüssigkeit abgossen und durch etwa 5 ccm $\frac{25}{100}$ iges Ammoniumchlorid ersetzt, wobei das Sediment vor dem Zusatz der Lösung mit einem dünnen Glasstab aufgewirbelt wird; der Glasstab wird beim Zusatz der Lösung mit dieser abgespült. Es wird wieder zentrifugiert und das Sediment in derselben Weise mit etwa 9—10 ccm Aceton-Alkohol (gleiche Teile) ausgewaschen. Nach dem Zusatz von Aceton-Alkohol wird besonders gut mit dem Glasstabe umgerührt, um das ausgeschiedene Ammoniumchlorid wieder aufzulösen. Man wiederholt das Auswaschen des Sedimentes mit Aceton-Alkohol, bis die abgossene Flüssigkeit mit einer Silbernitratlösung keine Spur von Trübung gibt. Mit dem auf diese Weise vom Ammoniumchlorid befreiten harnsauren Ammonium wird jetzt die Formoltitration ausgeführt.

Man bringt in ein zweites Zentrifugengläschen 5 Tropfen Formalin, setzt einen Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und tropft aus einer Bürette solange $\frac{n}{200}$ Natronlauge hinzu, bis eine bleibende Rosafärbung eingetreten ist; zu dem Ammoniumuratsniederschlag im ersten Röhrchen setzt man tropfenweise heißes Wasser bis zur Auflösung und fügt einen Tropfen Phenolphthalein und $\frac{n}{200}$ Natronlauge bis zur bleibenden Rosafärbung hinzu. Hierauf gießt man das neutralisierte Formalin in das Röhrchen mit neutraler Ammoniumuratlösung; es tritt Entfärbung ein. Jetzt notiert man den Stand der Bürette (sie muß in 0,05 ccm eingeteilt sein) und titriert die farblose Flüssigkeit bis zum Auftreten einer bleibenden Rosafärbung. Multipliziert man die Zahl der verbrauchten ccm $\frac{n}{200}$ Natronlauge mit 0,42, so erhält man den Promillegehalt der Harnsäure im Harn. Die $\frac{n}{200}$ Natronlauge muß aus einer $\frac{n}{10}$ Lauge frisch hergestellt werden.

Ein früher von Kowarsky⁶⁾ angegebenes Verfahren beruhte auch auf der Abscheidung der Harnsäure nach Hopkins und auf der Bestimmung der durch Salzsäure freigemachten Harnsäure mit einer $\frac{n}{20}$ Piperidinlösung nach Tunicliffe und Rosenheim.

g) Sicuriani⁷⁾ löst das aus 150 ccm erwärmten Harns nach Zusatz von 5 g Chlorammonium und $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen abgeschiedene Urat, nachdem dieses auf einem Filter gesammelt und

¹⁾ Boll. chim. farm. 1911. 50. 237; Chem. Ztg. Rep. 1911. 35. 402.

²⁾ Annal. chim. anal. appl. 1912. 17. 123.

³⁾ Pharm. Ztg. 1911. 56. 922.

⁴⁾ Boll. chim. Pharm. 1912. 51. 30.

⁵⁾ M. Klopstock u. A. Kowarsky, Praktikum der klinischen Untersuchungsmethoden. Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1920.

⁶⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1906. 32. 997.

⁷⁾ Archiv Farmacol. sperim. 1909. 8. 55; Pharm. Centrbl. 1910. 51. 174.

mit 96%igem Alkohol ausgewaschen ist, in 50 ccm siedender $\frac{1}{10}$ Normallauge, wäscht mit heißem Wasser nach und erhitzt die Lösung, bis die entweichenden Dämpfe rotes Lackmuspapier nicht mehr bläuen. Nach dem Abkühlen wird mit $\frac{1}{10}$ n-Schwefelsäure unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator zurücktitriert. Verbrauchte Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ n-Lauge .0,056 ergibt die im Liter Harn vorhandene Harnsäure.

Beurteilung.

Der Chlorammoniumzusatz ist ein viel zu geringer, das Ammoniumurat ist nur in ganz gesättigter Ammoniumchloridlösung unlöslich.

F. Herles verfährt in ähnlicher Weise, ebenso M. Bernard¹⁾; er läßt aber zweckmäßiger 10 ccm Harn, der gegebenenfalls vorher von Eiweiß befreit ist, mit 4 g Ammoniumchlorid versetzen und mindestens 3 Stunden stehen; der Niederschlag wird wie bei Sicuriani weiterbehandelt; zur Lösung werden 30 ccm $\frac{1}{10}$ n-Lauge verwendet.

h) F. Mallet²⁾ versetzt 100 ccm Urin mit 10 ccm einer Sodalösung (160:1 Liter) zur Entfernung der Phosphate, filtriert und fällt die Harnsäure, indem er 5 ccm einer Kupfersulfatlösung (40 g:1 Liter) und 20 ccm einer Lösung (100 g krystallisiertes Natriumhyposulfit und 100 g Seignettesalz im Liter) hinzufügt. Der Niederschlag wird gut ausgewaschen, in 500 ccm Wasser verteilt, mit 5 ccm Schwefelsäure versetzt und schließlich mit Chamäleonlösung titriert.

i) Haykraft, Herrmann fällen die Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung in Gegenwart von Magnesiasalz, wie bei 2 angegeben, aus. In der salpetersauren Lösung des Niederschlages bestimmt man das Silber nach der Volhardschen Methode; man titriert dann mit $\frac{1}{20}$ oder $\frac{1}{100}$ Normalrhodanammmonium, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

1 ccm $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammmonium = 0,00336 g Harnsäure.

k) B. Merk³⁾ gibt eine Methode an, die darauf beruht, daß Harnsäure durch Jodsäure infolge Zersetzung durch Jodausscheidung erkannt und bestimmt werden kann; 1 Mol. Jodsäure verbraucht 5 Mol. Harnsäure; das ausgeschiedene Jod wird mit Chloroform gelöst und mit Thio-sulfat bestimmt.

l) Calvello⁴⁾ hat die Verfahren von Arthand und Butte und Gautrelet geprüft. Nach diesen Methoden wird die Harnsäure als harnsaures Kupferoxydul niedergeschlagen. Indicator = Ferrocyankalium.

m) F. Repiton⁵⁾ empfiehlt eine jodometrische Bestimmung der Harnsäure.

5. Bestimmung nach E. Wörner.⁶⁾

Prinzip.

Das abgeschiedene Ammoniumurat wird in Natronlauge gelöst, das Ammoniak vertrieben und in der alkalischen Harnsäurelösung der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Ausführung.

150 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 40–45° erwärmt und darin 30 g Ammoniumchlorid aufgelöst. Nach $\frac{1}{2}$ –1stündigem Stehen (genügt nicht, am besten läßt man über Nacht stehen) wird der Niederschlag von dem Ammoniumurat abfiltriert, mit 10%iger Ammoniumsulfatlösung chlorfrei gewaschen und mit heißer 1–2%iger Natronlauge auf dem Filter gelöst. Man wäscht das Filter mit heißem Wasser aus und erwärmt das Filtrat so lange auf dem Wasserbade, bis alles Ammoniak entfernt ist; dann spült man die alkalische Harnsäurelösung in einen Kjeldahlkolben, zerstört mit 15 ccm der Schwefelsäure und etwas Kupfersulfat oder Quecksilber und bestimmt das gebildete Ammoniak in bekannter Weise (S. 170).

1 ccm $\frac{1}{10}$ n-Schwefelsäure = 0,0042 g Harnsäure.

¹⁾ Apoth.-Ztg. 1914. 29. 715.

²⁾ Rep. Pharm. 1899. 55. 100.

³⁾ Pharm. Ztg. 1905. 50. 791.

⁴⁾ Soc. chimic. d. Roma; Chem. Ztg. 1905. 29. 447.

⁵⁾ Rev. génér. d. chim. pur et appl. 1908. 11. 285; Chem. Centralbl. 1908. 79. II. 1129.

⁶⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 29. 70.

Beurteilung.

Größere Mengen Eiweiß sind zu entfernen. M. Lewandowsky bemerkt, daß das Verfahren dadurch versagen kann, daß das Ammoniumurat nicht ausfällt; die Ursache ist eine übergroße Acidität des Harnes. Man reguliert die Acidität deshalb, wie schon an anderer Stelle erwähnt, in der Weise, daß nur schwach saure Reaktion vorhanden ist.

Selbstverständlich kann mit dem auf dem Filter gesammelten Niederschlage auch nach 3 oder nach 4a verfahren werden, d. h. es kann in dem Ammoniumurat die Harnsäure durch Wägen oder durch Titrieren mit Permanganat bestimmt werden.

6. Ein von A. Jolles¹⁾ angegebenes Verfahren beruht in seinem Prinzip auf, daß die isolierte Harnsäure durch Behandlung mit Schwefelsäure und Permanganat in solche Verbindungen quantitativ zerlegt wird, die ihren Stickstoff durch unterbromigsaures Natrium quantitativ in Gasform abgeben. Aus dem Stickstoffvolumen berechnet man die Harnsäure.

Ähnlich verfährt J. F. Tocher²⁾; er oxydiert die Harnsäure mit Chromsäureanhydrid (CrO_3) zu Harnstoff und bestimmt diesen mit unterbromigsaurem Natrium.

E. Rieglers Verfahren beruht darauf, daß die Harnsäure aus dem Harn in Form von Ammoniumurat gefällt und dieses mit Salpetersäure (spez. Gew. = 1,1) behandelt, sich in Alloxan und Harnstoff zersetzt. Durch die aus der Reduktion der Salpetersäure entstandene salpetrige Säure wird der gebildete Harnstoff in Stickstoff und Kohlensäure zerlegt. Aus dem erhaltenen Gasvolumen ($\text{CO}_2 + \text{N}_2$), das in einem graduierten Gasmeßrohr aufgefangen wird, läßt sich die Harnsäure berechnen.

7. Bestimmung der Harnsäure für klinische Zwecke mit dem Urikometer nach J. Ruhemann³⁾.

Prinzip.

Es wird der Bindewert der Harnsäure im Urin mit Jod festgestellt.

Erforderliche Lösung.

Als Lösung wird empfohlen: 0,5 g Jod, 1,25 g Jodkalium, 7,5 g Alkohol abs., 5 g Glycerin, Aqu. destillat. ad 100,0. Man verwahre die Lösung nicht länger als fünf Wochen.

Ausführung der Bestimmung.

Eine Gebrauchsanweisung — man benütze die neuere, nicht die alte — liegt dem Instrumente bei; dieses enthält eine 3fache Einteilung; bis zur ersten Marke füllt man Schwefelkohlenstoff, bis zur zweiten die Jodlösung. Über der zweiten Marke befindet sich die Skala für die Werte der Harnsäure in $\frac{\text{g}}{100}$.

Man setzt von dem zu prüfenden sauren Harn — ist er nicht sauer, so ist er mit Essigsäure anzusäuern — so lange hinzu, bis der Schwefelkohlenstoff beim Schütteln völlig entfärbt worden ist; die Bestimmung muß man rasch ausführen. Man liest nach dem Verschwinden des weißen Schaumes die Harnsäurewerte an der Skala ab. Harnsäurereicher Harn wird verdünnt; enthält der Harn weniger Harnsäure, als der Apparat anzeigt, dann verwendet man die um die Hälfte verdünnte Jodlösung.

Beurteilung.

Größere Mengen von Eiweiß, Blut, Eiter sind zu entfernen; der Genuß jodhaltiger und anderer Medikamente veranlaßt, daß zu niedrige Werte gefunden werden; Acetessigsäure, Aceton stören; man wird aber bei der Prüfung auf diese Stoffe aufmerksam.

Eschbaum, Kraft erhielten mit der Methode (als Vorprobe) brauchbare Resultate; nach anderen Autoren (S. Weller) wurden ungünstige Ergebnisse und ganz unbrauchbare Zahlen erhalten.

Ein auf dem gleichen Prinzip beruhendes Verfahren — Harnsäure wird durch Jod zu Alloxan und Harnstoff oxydiert — empfiehlt zur raschen Bestimmung der Harnsäure für die laufenden klinischen Untersuchungen E. Vaillant.⁴⁾

Man läßt zu 1 ccm Schwefelkohlenstoff und 2 ccm einer Lösung von 3,78 g Jod und 15 g Jodkalium auf 1000 ccm Wasser Harn aus einer Bürette solange zufließen, bis Entfärbung eintritt. Durch Division der verbrauchten Anzahl Kubikzentimeter Harn in 5 enthält man die im

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 29. 222; Chem. Ztg. 1902. 26. 1015; Wien. med. Wochenschr. 1903. 41. Nr. 10; Bericht. deutsch. Pharm. Gesellsch. 1904. 14. 455; Österr. Chem.-Ztg. 1913. Nr. 21; Biochem. Zeitschr. 1913. 57. 414.

²⁾ Pharm. Journ. 1902. [4]. 15. 161.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1902. 39. 27. 55; Deutsch. med. Wochenschr. 1906. 32. 1121. Von Meyer, Petri und Holland in Ilmenau mit Gebrauchsanweisung zu beziehen.

⁴⁾ Annal. chim. analyt. appl. 1922. [2] 4. 178; Chem. Centralbl. 1922. 93. IV. 1160.

Liter Harn vorhandene Harnsäure in Gramm. Alkalischer Harn ist mit wenigen Tropfen Essigsäure anzusäuern, größere Mengen Eiweiß sind durch Aufkochen des Harnes vorher zu entfernen.

Colorimetrische Bestimmungsverfahren der Harnsäure.

Solche geben an O. Folin und A. B. Macallum jun.¹⁾, O. Folin und W. Denis²⁾, W. Autenrieth und A. Funk³⁾, St. R. Benedict und E. H. Hitchcock⁴⁾, C. J. Curtmann und M. Freed⁵⁾, O. Folin und Hsieu Wu⁶⁾.

Sie beruhen meist auf der Färbung, die die aus Harn nach irgendeinem Verfahren abgeschiedene Harnsäure mit dem Harnsäurereagens von Folin-Denis gibt und auf dem Vergleichen mit einer Harnsäurelösung von bestimmtem Gehalte. Autenrieth und Funk haben außer dieser Bestimmungsweise noch die Jodsäuremethode zu einer colorimetrischen gestaltet. Die Bestimmungen werden mit dem bekannten Colorimeter vorgenommen; Vergleichskeile, Kurven und Anweisung sind von der Firma Hellige & Cie. in Freiburg i. B. zu erhalten.

Eine chronometrische Bestimmung erwähnt E. Riegler⁷⁾.

Wahl der Methode.

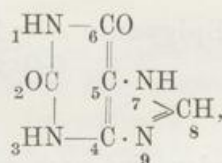
Die Methoden 2, 3, 4a (auch der größte Teil der übrigen aufgeführten Verfahren) geben gute Resultate. Wie aus der angegebenen Ausführungsweise zu ersehen ist, erfordert die Methode 2 längeren Zeitaufwand; genaues Arbeiten ist bei allen Verfahren unerlässlich. Die Methode 1 hat als älteste mehr historisches Interesse. Bedingung ist überall, daß eiweißfreier Harn zur Anwendung kommt.

B. Purinbasen (Xanthinbasen, Nucleinbasen, Alloxurbasen).

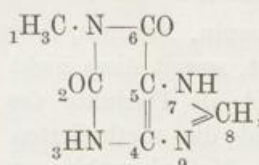
Seitdem experimentell durch die Synthesen nachgewiesen ist, daß die Harnsäure und die Xanthinkörper Abkömmlinge der gleichen Grundform, des aus neun Gliedern ringförmig zusammengesetzten Purins [von purum uricum abgeleitet, E. Fischer⁸⁾], sind und die Xanthinkörper, deren Entstehung und Bildung zum Teil aus den für die gesamten Vorgänge im lebenden Organismus wichtigen Nucleinen, Nucleinsäuren durch fermentative Spaltung (Nucleaseferment) erfolgt, als die Vorstufe der Harnsäure gelten, hat man dem Vorkommen dieser Basen im Harn eine größere physiologische Bedeutung beigemessen. Die Purinbasen sind in den Nucleinen an die Nucleinsäure gebunden und werden aus diesen durch hydrolytische Spaltung leicht abgeschieden.

Im Harn kommen vor:

Xanthin oder 2,6-Dioxypurin



1-Methylxanthin oder 1-Methyldioxypurin 2,6



¹⁾ Journ. of Biolog. Chem. 1912. 13. 363.

²⁾ Ebenda. 1913. 14. 95.

³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1912. 59. 767; 1914. 61. 457.

⁴⁾ Journ. of Biolog. Chem. 1915. 20. 619.

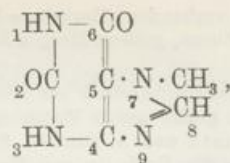
⁵⁾ Ebenda. 1916. 28. 89.

⁶⁾ Journ. Biol. Chem. 1919. 38. 459.

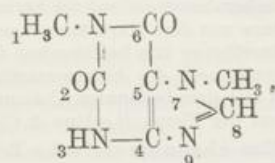
⁷⁾ Compt. rend. soc. de biol. 1922. 87. 291; Chem. Centralbl. 1923. 94. 298.

⁸⁾ Berl. Ber. 1884. 17. 329; 1898. 31. 2550; 1897. 30. 556; 1897. 30. 549. 2249.

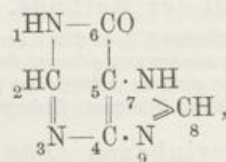
Heteroxanthin oder 7-Methyldioxy-
purin 2,6



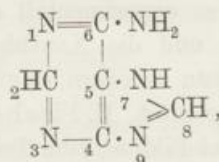
Paraxanthin oder 1,7-Dimethyl-
dioxy purin 2,6



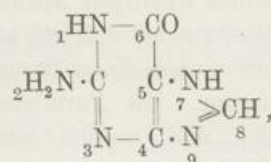
Hypoxanthin oder 6-Oxypurin



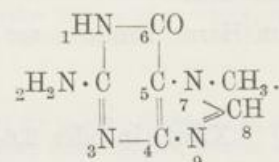
Adenin oder 6-Aminopurin



Guanin oder 2-Amino-6-Oxypurin
(noch nicht mit Sicherheit im Harn
nachgewiesen)



Epiguanin oder 7-Methyl-2-Amino-
6-Oxypurin



Außerdem sind noch zu erwähnen: Episarkin und Carnin.

Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin werden aus den Nucleinen gebildet, soweit diese nicht in Harnsäure übergehen (endogene Harnpurine), sie sind als Produkte des Kernstoffwechsels im allgemeinen aufzufassen, während die methylierten Purinbasen Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Methylxanthin aus den in unseren Genußmitteln vorkommenden Stoffen, Coffein, Theobromin, Theophyllin stammen, also aus den Purinen der Nahrung (exogene Harnpurine); sie stellen die Hauptmasse der sog. Alloxurbasen dar. Man hat also auch hier, wie bei der Harnsäure, eine endogene und exogene Bildung anzunehmen. Merkwürdig ist, daß im Organismus eine Entmethylierung stattfindet, indem aus dem Coffein ein Dimethylxanthin entsteht.

Die genannten Basen kommen im Harn nur in sehr geringer Menge vor; M. Krüger und G. Salomon¹⁾ konnten aus 10,000 Liter Menschenharn gewinnen:

Xanthin 10,11 g,
1-Methylxanthin 31,285 g,
Heteroxanthin 22,345 g,
Paraxanthin 15,31 g,
Hypoxanthin 8,50 g,
Adenin 3,54 g,
Epiguanin 3,40 g.

Flatow und Reitzenstein fanden in der Tagesmenge Harn 15,6 bis 45,1 mg. Bei angestrenzter Muskelarbeit können die Purinbasen in solcher Menge an das Blut abgegeben werden, daß eine Steigerung des Purinbasengehaltes des Urins auftritt; die tierischen Zellen finden keine Zeit, die Basen in Harnsäure überzuführen (Abderhalden).

Das Verhältnis der Harnsäure: Purinstickstoff = 8,0—12,0 : 1.

Bei einem und demselben Individuum ist das Verhältnis ziemlich gleichbleibend.

Vermehrt finden sich die Purinbasen im Harn Nephritischer und Leukämischer (reichlicher Zerfall von Leukocyten); der Gehalt kann hier um das Zehnfache gesteigert werden; bei akuter Leberatrophie tritt ebenfalls Vermehrung ein; bei starker Vermehrung der Basen sehen wir gewöhnlich eine Verminderung der Harnsäure und umgekehrt bei starker Harnsäureausscheidung eine Verminderung der Purinbasen, gewiß ein Beweis, daß die Harnsäure aus diesen Basen sich bildet. Xanthin tritt auch als Bestandteil von Blasensteinen und zuweilen in Sedimenten auf.

Darstellung und Trennung der Purinbasen. Nach M. Krüger und G. Salomon.²⁾

Der Harn (man verwendet in einzelnen Portionen mindestens 300 Liter) wird entweder durch ammoniakalische Silberlösung oder siedend heiß mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat ausgefällt. Im ersten Falle wird der gewaschene Niederschlag in einem im siedenden Wasserbade befindlichen Rundkolben durch verdünnte Salzsäure vorsichtig zersetzt, bis die voluminösen Silberverbindungen vollständig verschwunden sind und bis an deren Stelle sich leicht zu Boden setzendes Chlorsilber entstanden ist. Dann erhitzt man den Kolben über freiem Feuer, gibt die gleiche Menge der vorher verbrauchten Salzsäure hinzu, filtriert heiß und wäscht den Niederschlag mit stark verdünnter Salzsäure aus. Die Hauptmenge der Harnsäure bleibt beim Chlorsilber. Im anderen Falle wird der mit heißem Wasser gewaschene Niederschlag der Kupfer-Natriumbisulfitfällung gleichfalls im Rundkolben mit Wasser erwärmt, durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, dann

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1898/99. 26. 367.

²⁾ Ebenda. 1898/99. 26. 351; 1905. 45. 1.

mit Salzsäure bis zur starken sauren Reaktion versetzt, durch Schwefelwasserstoffgas zerlegt und die Lösung heiß filtriert. Auch hier bleibt die Hauptmenge der Harnsäure auf dem Filter. Das salzsaure Filtrat (sei es vom Chlorsilber oder vom Schwefelkupfer) wird durch möglichst wenig Tierkohle entfärbt; es unterbleibt aber die Behandlung mit Kohle besser, da diese beträchtliche Mengen der Basen zurückhält, zu deren Wiedergewinnung mehrmaliges Auskochen mit verdünnter Salzsäure nötig ist.

Das Filtrat wird auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft, zum Schlusse bei niedriger Temperatur und unter häufigem Umschwenken der Schale oder besser während Darüberleitens eines kräftigen Luftstromes. Die im sirupösen Rückstande noch reichlich vorhandene Salzsäure wird durch zweimaliges Eindampfen mit Wasser und schließlich durch Eindampfen mit 96%igem Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Diese wird mit Wasser bei 40° digeriert, nach mehrstündigem Stehen abfiltriert, mit Wasser salzsäurefrei gewaschen und der Filtrerrückstand mit Alkohol und Äther behandelt. Das Filtrat kann noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt werden; jedoch bleibt beim Digerieren mit Wasser nur ein geringer Rückstand, der mit dem ersten vereinigt wird. Der ungelöste Teil besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und l-Methylxanthin (Xanthinfraktion), in die wässrige Lösung gehen über Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und l-Methylxanthin.

a) Xanthinfraktion: Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und l-Methylxanthin. Das Gemenge der drei Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3%iger, salzsäurefreier Natronlauge heiß gelöst; innerhalb 24 Stunden scheidet sich das Natriumsalz des Heteroxanthins in reinem Zustande und fast vollständig aus. Je 60 ccm des auf 60° erwärmten Filtrates werden in ein vorher aufgekochtes, kaltes Gemisch aus 20 ccm konz. Salpetersäure und 20 ccm Wasser langsam und unter Umrühren eingetragen. Hierbei wird der Rest der Harnsäure, der mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war, zerstört; innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dieses unter dem Mikroskope noch nicht als rein, so neutralisiert man je 3 g des lufttrockenen Rohproduktes unter wenig Wasser mit Natronlauge, erwärmt, löst das freie Xanthin durch mehr Lauge, verdünnt auf 60 ccm und behandelt die auf 60° erwärmte Lösung wie oben. Reines salpetersaures Xanthin setzt sich als schweres Krystallpulver in aus Blättchen bestehenden Drusen ab. Zur Darstellung des freien Xanthins wird die ammoniakalische Lösung des Nitrates eingedampft, wobei sich die Base in amorphen Krusten abscheidet. Das l-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate von Xanthinnitrat durch Übersättigen mit Ammoniak und durch Eindampfen als atlasglänzende Masse, aus mikroskopischen Blättchen bestehend, erhalten. Der Rest kann durch ammoniakalische Silberlösung oder als Kupferoxydulverbindung gefällt werden.

b) Hypoxanthinfraktion: Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin. Die salzsaure, vom Xanthin und von seinen Homologen abfiltrierte Lösung scheidet auf Zusatz von Ammoniak in geringem Überschusse sofort das Epiguanin in kleinen glänzenden Prismen aus. Das Filtrat wird durch Erhitzen vom Ammoniak befreit, die nicht zu konzentrierte Lösung in der Kälte vorsichtig mit 1,1%iger Pikrinsäurelösung in geringem Überschusse versetzt und das Adeninpikrat sofort mit einer Saugvorrichtung abfiltriert. Nachdem das mit Schwefelsäure versetzte Filtrat durch Ausschütteln mit Benzol oder Toluol von im Überschusse vorhandener Pikrinsäure befreit ist, wird die Gesamtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoffgas zersetzt und die wässrige Lösung der Basen eingedampft. Je 3 g des trockenen Rückstandes werden in 100 ccm heißer verdünnter Salpetersäure (90 ccm Wasser und 10 ccm konzentrierter Salpetersäure) gelöst; beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrate von diesen Körpern werden die noch in diesem vorhandenen Basen, und zwar geringe Mengen Hypoxanthin, der Rest von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, sowie das Paraxanthin als Silber- oder Kupferoxydulverbindungen gefällt und daraus die Basen in der bereits erörterten Weise isoliert. Die salzsaure Lösung wird eingedampft und der Rückstand, wie angegeben, mit möglichst wenig kaltem Wasser extrahiert; ungelöst bleiben Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, die durch 3,3%ige Natronlauge getrennt werden; das Filtrat enthält Hypoxanthin und Paraxanthin. Aus dieser Flüssigkeit werden die Basen, um sie salzsäurefrei zu erhalten, wieder in Form ihrer Silber- und Kupferoxydulverbindungen niedergeschlagen und isoliert; der Rückstand ihrer wässrigen Lösung wird aus wenig verdünnter Salpetersäure (Konzentration wie angegeben) umkrystallisiert. Salpetersaures Hypoxanthin scheidet sich aus, das Paraxanthin kann aus der Mutterlauge als Natriumsalz oder als freie Base gewonnen werden.

Wenn Guanin sich noch als Harnbestandteil finden sollte, so wäre es aller Wahrscheinlichkeit nach in der Xanthin- und Hypoxanthinfraktion zu suchen, woraus es leicht zu isolieren wäre. Die Xanthinfraktion wird, mit Ammoniak behandelt, das Guanin ungelöst zurücklassen; in der Hypoxanthinfraktion wird es gleichzeitig mit Epiguanin durch Ammoniak ausgeschieden werden und kann von letzterem durch Behandeln mit heißem Wasser oder heißem verdünntem Ammoniak getrennt werden.

Nach weiteren Versuchen der Verf.¹⁾ wird zur Abscheidung des Paraxanthins der Rückstand der säurefreien Basenlösung in 15 Teilen 10%iger Natronlauge gelöst und im Eisschranke stehen gelassen; es scheidet sich Paraxanthinnatrium aus, aus dem durch Neutralisieren der Lösung mit Essigsäure freies Paraxanthin gewonnen werden kann.

¹⁾ H. Tierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. A. Hirschwald, Berlin 1903.

Allgemeine Eigenschaften der Purinbasen.

Sie werden amorph, meist aus unreinen Lösungen, doch auch in recht charakteristischen Krystallformen erhalten. Sie sind mit Ausnahme der Harnsäure amphotere Elektrolyte, sind schwache Säuren und Basen und bilden sowohl H- als OH-Ionen. In Wasser sind sie alle sehr schwer, einige fast gar nicht löslich, dagegen lösen sie sich alle in Alkalihydraten, manche in Ammoniak. Mit Mineralsäuren, in denen sie sich leichter oder schwerer lösen, bilden sie krystallisierende Salze, von denen die meisten durch Wasser allein zersetzt werden. Sehr charakteristisch ist, daß alle Purinbasen in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Auch durch Quecksilberchlorid, besonders aber durch ammoniakalische Silberlösung, durch die meisten Alkaloidreagentien werden sie abgeschieden. Mit Pikrinsäure geben sie, ausgenommen Xanthin, Methylxanthin, Heteroxanthin, krystallisierende Salze. Durch Bleiessig und Ammoniak werden alle Basen, Epiguanin ausgenommen, gefällt, das gleiche ist der Fall mit essigsaurem Kupfer, besonders aber mit Kupferoxydul; Kupfersulfat und Bisulfit oder Thiosulfat geben nämlich Fällungen, die in Wasser unlöslich, in Salpetersäure leicht löslich sind.

Beim Glühen entwickeln die Basen den Geruch nach Blausäure oder Isonitril.

Besondere Eigenschaften der einzelnen Basen und deren qualitativer Nachweis.

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Xanthin Das Xanthin, von Strecker und Scherer als normaler Bestandteil des Harnes erkannt, ist entweder ein amorphes weißes Pulver, beim Reiben wachsglänzend, oder es krystallisiert aus einer schwach alkalischen, stark verdünnten Lösung nach Essigsäurezusatz in farblosen, schönen Drusen aus, die mikroskopisch betrachtet aus glänzenden rhombischen Blättchen bestehen, mit 1 Mol. Wasser, das nach J. Horbaczewski erst bei etwa 130° entweicht. Beim ersten Ausrystallisieren, namentlich aus unreinen Lösungen, kommen der Harnsäure ähnliche Krystalle zum Vorschein. In kaltem Wasser ist es sehr schwer (1:14151 nach Almén), in heißem 1:1300—1400 löslich, in Alkohol, Äther ist es unlöslich, leicht löslich dagegen in Alkalilauge, Ammoniak, schwer in Säuren. Chlorzink und Chlorcalcium fällen es aus ammoniakalischer Lösung, Quecksilberchloridlösung fällt Xanthin aus wässriger Lösung (Strohmeyers Reaktion).	I. Wird wenig Substanz mit einigen Tropfen frischen Chlorwassers — der Zusatz von Salpetersäure ist unnötig — eingedampft, und der Rückstand unter einer Glasglocke der Einwirkung von Ammoniakdampf ausgesetzt, so färbt sich der Rückstand schön rosenrot (Weidelsche Probe). E. Fischer¹⁾ kocht eine geringe Menge mit Chlorwasser oder mit Salzsäure und einer Spur chlorsauren Kaliums und befeuchtet die vorsichtig eingedampfte Flüssigkeit mit Ammoniak. Beurteilung. Harnsäure gibt diese Probe auch. II. Xanthinprobe. Man löst eine kleine Menge in heißer Salpetersäure und verdampft im Wasserbade zur Trockne, wobei ein citronengelber Fleck entsteht, der sich in Natron- oder Kalilauge mit orangegelber Farbe löst; dampft man die Lösung ein, so färbt sie sich violettrot und läßt einen dunkelpurpurnen Rückstand

¹⁾ Berl. Bericht. 1897. 30. 2236.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Charakteristisch ist das Silbersalz, das aus einer Lösung von Xanthin in Ammoniak durch Silbernitrat gefällt wird ($C_5H_4N_4O_3 \cdot Ag_2O$); in heißer Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag, um sich beim Erkalten und nach dem Verdünnen der Lösung in stark lichtbrechenden kleinen Nadeln wieder auszuschcheiden. Gegen heiße Salpetersäure ist es beständig, mit rauchender Salzsäure im geschlossenen Rohre über 200° erhitzt, zerfällt es in Ammoniak, Kohlensäure, Ameisensäure, Glykokoll.	erkennen (Unterschied von Harnsäure) (Strecker). III. Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge Xanthin in Substanz, so bildet sich um dieses ein dunkelgrüner Hof, der sich braun färbt und dann verschwindet (Hoppe-Seyler). IV. Eine alkalische Lösung färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure rot (R. Burian).
1-Methylxanthin.	
Krystallisiert aus Wasser in farblosen kleinen Krystallen (Rosetten), aus salzsaurer oder ammoniakalischer Lösung in lockeren, glänzenden Massen, aus essigsaurer Lösung in dünnen sechseckigen Blättchen. Ist in Wasser leichter löslich wie Xanthin, löslich in Ammoniak und Natronlauge, vor allem auch zum Unterschiede von Xanthin leicht löslich in verdünnten Säuren. Durch Ammoniak und Silbernitrat wird es gefällt und verhält sich hiebei wie Xanthin. Es wurde von Krüger im Harn gefunden.	Gibt die Xanthinreaktionen.
Heteroxanthin.	
Aus heißem Wasser krystallisiert es in glänzenden Nadeln, meist zu Rosetten vereinigt, die bei 380° schmelzen. Es ist schwer löslich in kaltem, leicht in heißem Wasser, auch in Ammoniak und in heißer Salzsäure, unlöslich in Äther und Chloroform. Aus seinen Lösungen in Ammoniak oder Alkalien ist es schon durch Kohlensäure fällbar. Salpetersäure, wie ammoniakalische Lösungen werden durch Silbernitrat gefällt; die Fällung ist in verdünnter Salpetersäure beim Erwärmen löslich, beim Abdampfen scheidet sich die Silberverbindung in Tafeln oder Prismen wieder aus. Mit Pikrinsäure gibt es zum Unterschiede von Paraxanthin keinen Niederschlag. Salomon fand es zuerst im Harn.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch: Löst man salzsaures Heteroxanthin in verdünnter erwärmter Natronlauge, so scheiden sich beim Erkalten glänzende Krystalle, schiefwinklige Tafeln, Prismen, meist Zwillinge von Heteroxanthinnatrium aus. (Unter dem Mikroskope beobachten!)
Paraxanthin.	
Glänzende, sechseckige Tafeln in Büscheln und Rosetten (seidenglänzend); schmilzt bei 295°. In kaltem Wasser ist es viel leichter löslich als Xanthin und seine anderen Homologen, unlöslich in Alkohol und Äther, löslich in Ammoniak, Salzsäure und Salpetersäure. Verhält sich gegen ammoniakalische Silberlösung wie das Heteroxanthin; salpetersaures Paraxanthinsilber setzt sich in seidenglänzenden Büscheln ab. Thudichum und Salomon fanden es im Harn.	I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch ist ebenfalls das Verhalten gegen Natronlauge; in konz. Lösung fällt Natronlauge Paraxanthinnatrium in länglichen, meist schmalen Tafeln und Prismen mit Längsrissen durchzogen, teils isoliert, teils in Bündeln, in Wasser etwas leichter löslich, als das Natriumsalz des Heteroxanthins.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Hypoxanthin (Sarkin). Farblose Krystalle, häufig undeutlich, in etwa 1400 Teilen kalten und 70 Teilen kochenden Wassers löslich, auch in Alkalien und Säuren; verbindet sich mit Basen zu Salzen. Wird aus seiner Lösung in Alkalien durch Kohlensäure gefällt. Adenin. Lange nadelförmige Krystalle, aus verdünnten Lösungen wasserfrei in wetzsteinförmigen kleinen Krystallen sich ausscheidend, die beim Liegen an der Luft undurchsichtig, trüb werden, besonders beim Erwärmen der Krystalle in wenig Wasser bei 53°. In etwa 1080 Teilen kaltem, leicht in heißem Wasser löslich, leicht löslich auch wieder in Alkalien, unlöslich in Äther und Chloroform. Guanin. Aus konzentr. Lösungen amorph sich ausscheidend erhält man das Guanin aus einer sehr verdünnten warmen Lösung in Lauge nach Zusatz von $\frac{1}{3}$ Volumen Alkohol und Essigsäure im Überschuß in großen Krystallen (ähnlich dem Kreatininchlorzink). Unlöslich in Wasser, wenig löslich in Ammoniak, leicht in Alkalien, auch in verdünnten Säuren. Durch Metaphosphorsäure wird es fast quantitativ gefällt. Das salpetersaure Guaninsilber ist in heißer Salpetersäure löslich, krystallisiert aber beim Erkalten in feinen Nadeln aus. Es wurde von Pouchet im Harn gefunden.	I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Gibt die auch für Adenin charakteristische Reaktion. III. Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure positiv; kein Alkaliüberschuß! I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Charakteristisch ist das Verhalten der Krystalle beim Erwärmen (Trübwerden) und das Golddoppelsalz. Eine Lösung von salzsaurem Adenin gibt mit Goldchlorid einen charakteristischen, aus würfelförmigen, prismatischen, auch blattförmigen Krystallen bestehenden Niederschlag (Mikroskop). III. Mit Zink und Salzsäure reduziert ($\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade), nimmt eine Lösung von Adenin (ebenso Hypoxanthin) eine vorübergehende Rotfärbung an; die filtrierte Lösung wird auf Zusatz von Natronlauge im Überschuß an der Luft rubinrot, dann braunrot (Azulminsäure) (Kossel und Fischer). IV. Eine Lösung in Natronlauge färbt sich mit Diazobenzolsulfosäure rot, gibt also die Diazoreaktion. I. Gibt die Xanthinprobe mit braunroter, beim Erhitzen blauvioletter Farbe. Probe mit Diazobenzolsulfosäure positiv. II. Charakteristisch: 1. Das Pikrat, das in goldgelben, in kaltem Wasser fast unlöslichen Krystallen krystallisiert (Xanthin und Hypoxanthin geben leicht lösliche Pikrate) und oft pinselförmige, auch farnkrautähnliche Gebilde darstellt. Eine heiße Lösung mit Silbernitrat vor dem Abscheiden des Pikrates versetzt, gibt einen amorphen, citronengelben Niederschlag. 2. Konz. Ferricyankaliumlösung gibt mit verdünnter Guaninlösung gelbbraune prismatische Krystalle, in warmem Wasser löslich. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag (Capranika). 3. Das salzsaure Salz krystallisiert in langen, büschelförmigen oder strahlenförmig angeordneten Krystallen (Mikroskop).

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
Epiguanin. Krystallisiert aus Wasser in feinen Nadeln, aus ammoniakhaltigem Wasser in seidenglänzenden Prismen, aus der salzsauren Lösung nach dem Übersättigen mit Ammoniak in langen, feinen Nadeln. Sehr schwer, fast unlöslich in Wasser, auch in heißem, ebenso in Ammoniak, leichter in Natriumcarbonatlösung, sehr leicht in verdünnter Natronlauge und in Säuren (auch Schwefelsäure). Aus der Lösung in heißer 33%iger Natronlauge erhält man die Natriumverbindung in stark glänzenden breiten Nadeln. Ammoniakalische Silberlösung fällt Guanin, nicht aber Bleiacetat oder Bleiacetat und Ammoniak. Es wurde von Krüger aus Harn dargestellt.	I. Gibt die Xanthinprobe und die Weidelsche Probe. II. Charakteristisch ist die Natriumverbindung und das beim Erkalten seiner heißen Lösung in feinen Nadeln sich abscheidende Pikrat.
Episarkin. Scheint identisch zu sein mit Epiguanin.	
Carnin Das Vorkommen des Carnins im Harn ist noch nicht erwiesen	

Quantitative Bestimmung.

1. Nach der Methode von E. Salkowski¹⁾ mit Verbesserungen von H. Huppert.²⁾

Prinzip.

Die Purinbasen werden als Silbersalz gefällt, nachdem die Fällung der Purinkörper, der Harnsäure + Purinbasen, durch ammoniakalische Silberlösung zerlegt ist und die Purinbasen durch verdünnte Schwefelsäure von der Harnsäure getrennt sind.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung, wie S. 217 oder 3%ige Silbernitratlösung.
2. Magnesiamischung nach Ludwig (S. 217).
3. Verdünnte Schwefelsäure (10 ccm:550 ccm Wasser).
4. $\frac{1}{50}$ Normalrhodanammoniumlösung, eingestellt mit einer $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung (3,4 g Silbernitrat im Liter) S. 80

Ausführung.

500 ccm eiweißfreier Harn von mittlerer Dichte werden in einem graduirten Meßzylinder zur Entfernung der Phosphate mit 50 ccm der Magnesiamischung versetzt und mit starkem Ammoniak zu 600 ccm aufgefüllt. Man filtriert durch ein Faltenfilter und versetzt vom Filtrate 540 ccm (= 450 ccm ursprünglichen Harnes) in einem Becherglase mit 55 ccm der

¹⁾ Archiv Physiol. 1898. **69**, 280.

²⁾ Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. W. Wiechowski, Die Purinstoffe. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1913.

ammoniakalischen oder mit etwa 35 ccm der 3%igen wässerigen Silbernitratlösung. Nach einstündigem Stehen wird der Niederschlag, der durchscheinend und gallertig, nicht weiß aussehen muß — im letzteren Falle enthielte er noch Chlorsilber, das durch Ammoniakzusatz in Lösung zu bringen wäre —, auf einem dem Trichter anliegenden Filter gesammelt und silberfrei gewaschen.

Man spritzt den Niederschlag mit der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurück, säuert mit einigen Tropfen Salzsäure an und leitet in die ungefähr 250—350 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlage zur vollständigen Zerlegung desselben Schwefelwasserstoff ein; man kann auch, wie S. 217 angegeben, vorher einige Kubikzentimeter von Kupfersulfatlösung zusetzen, da das gebildete Schwefelkupfer die Eigenschaft hat, das Silbersulfid mit niederzureißen und Filtrate zu geben, aus denen sich beim Eindampfen kein Silbersulfid mehr ausscheidet. Nach dem Zerlegen des Silberniederschlags wird das Becherglas mit der Flüssigkeit auf dem Wasserbade erhitzt, die Flüssigkeit abfiltriert und der Niederschlag mit heißem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale zur Trockene und erhitzt zur Lösung der Purinbasen den Trockenrückstand mit 25—30 ccm der verdünnten Schwefelsäure bis zum Sieden, worauf man die Flüssigkeit 16—20 Stunden zur Abscheidung der Harnsäure stehen läßt. Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf einem kleinen Filter abfiltriert, mit der gleichen Schwefelsäure zwei- bis dreimal ausgewaschen und das nicht mehr als 50 ccm betragende Filtrat (und die Waschflüssigkeit) nach dem Übersättigen mit Ammoniak nochmals mit Silberlösung gefällt. Der abfiltrierte Niederschlag wird ausgewaschen, bis er silber-, chlor- und schwefelsäurefrei ist und dann im Porzellantiegel verbrannt. Das gebildete Silber wird in chlorfreier Salpetersäure gelöst und wie S. 80 angegeben nach Volhard mit der $\frac{1}{50}$ Normalrhodanlösung titriert.

1 ccm $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammoniumlösung = 0,00152 g Xanthin.

1 ccm $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammoniumlösung = 0,002157 g Silber (Ag).

1 Teil Silber = 0,277 Teilen Purinbasen-Stickstoff oder 0,7381 Teilen Purinbasen.

Selbstverständlich könnte der abfiltrierte Silberpurinbasenniederschlag auch nach Kjeldahl verbrannt werden (vollständiges Entfernen des Ammoniaks!).

1 g N = 2,714 g Xanthin.

Beurteilung.

Ganz genaue Zahlen liefert auch diese als die beste bekannte Methode nicht, da eine geringe Menge Harnsäure gelöst bleibt und die Verbindung der Purinbasen mit Silberoxyd in Ammoniak nicht vollkommen unlöslich ist; eine nach jeder Richtung hin ganz einwandfreie Methode wird wohl auch kaum gefunden werden können.

2. Zweckmäßig kann man nach Malfatti¹⁾ die Bestimmung der Purinbasen an die Bestimmung der Harnsäure nach Salkowski-Ludwig (S. 216) anschließen, indem man die im sauren Filtrate von der gesammelten Harn-

¹⁾ Bericht des III. internat. Chemiker-Kongresses. 1898 Wien. II. 243.

säure vorhandenen Purinbasen entweder als Silberverbindung oder als Kupferverbindung ausfällt. Man kann mit den Fällungen direkt oder nach dem Zersetzen derselben mit Schwefelwasserstoff im Filtrate die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vornehmen (s. folgende Methode).

3. Nach M. Krüger und J. Schmid.¹⁾

Prinzip.

Durch Kupfersulfat mit Natriumbisulfid werden Harnsäure und Purinbasen als Kupferoxydulverbindungen (Cuproverbindungen) gefällt; diese werden durch Natriumsulfid zerlegt; Harnsäure und Purinbasen gehen in Lösung; aus der abfiltrierten wässrigen Lösung wird die Harnsäure durch Salzsäure gefällt; aus dem Filtrate von dieser werden die Purinbasen wieder als Silber- oder Kupferoxydulverbindung abgeschieden. Man ermittelt endlich den Stickstoff der Harnsäure, wie den der Purinbasen.

Erforderliche Lösungen.

1. Käufliche 10%ige Natriumbisulfidlösung (Kahlbaum).
2. 10%ige Kupfersulfatlösung.
3. Natriumsulfidlösung (S. 217).
4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heiße 0,5%ige Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.
5. 10%ige Salzsäure.
6. 10%ige Essigsäure.
7. Ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamischung (S. 217).
8. 6%ige Dinatriumphosphatlösung.

Für die Bestimmung der Purinbasen nach der Silberfällung noch

7. Ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamischung (S. 217).
8. 6%ige Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung.

Der vierte oder fünfte Teil der auf 1600 oder 2000 ccm verdünnten Tagesmenge des von Eiweiß befreiten Harnes, 400 ccm, wird in einem Literkolben (Schottenkolben) mit 24 g Natriumacetat und 40 ccm der Natriumbisulfidlösung versetzt, zum Kochen erhitzt und nach Zusatz von 40–80 ccm Kupfersulfatlösung (je nach der voraussichtlichen Menge der vorhandenen Purinkörper) mindestens noch drei Minuten lang gekocht. Den entstandenen Niederschlag filtriert man sofort oder nach dem Abkühlen der Flüssigkeit durch ein Faltenfilter, wäscht mit heißem Wasser aus, bis das Filtrat farblos abläuft und spritzt den Niederschlag mit etwa 200 ccm heißem Wasser in den beim Füllen benutzten Kolben zurück oder gibt Filter mit Rückstand mit den 200 ccm Wasser in den Kolben; man erhitzt wieder zum Sieden, nachdem man vorher das Filter durch Schütteln zerteilt hat und zersetzt die Kupferverbindung mit 30 ccm Natriumsulfidlösung. (Ein Tropfen der Flüssigkeit muß auf Bleipapier Braunfärbung hervorrufen, es muß Natriumsulfid im Überschusse vorhanden sein.) Nach vollständig erfolgter Zersetzung säuert man mit Essigsäure an und erhält, bis der abgeschiedene Schwefel sich zusammengeballt hat, im Sieden, worauf man sofort mit Saugvorrichtung und Porzellanfilterplatte filtriert und den Filtrerrückstand gut mit heißem Wasser auswäscht. Das Filtrat wird nach Zusatz von 10 ccm 10%iger Salzsäure in einer Porzellanschale auf etwa 10 ccm eingedampft, die nach zweistündigem Stehen in der Kälte abgeschiedene Harnsäure durch ein kleines Filter abfiltriert, mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen (Filtrat und Waschwasser betragen 75 ccm) und der Filtrerrückstand mit Filter nach

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 45. 1.

Kjeldahl behandelt (S. 170). Man multipliziert den gefundenen N mit 8 und zählt zu der so gefundenen Harnsäure noch 0,0035 g (im Filtrate von 75 ccm gelöst gebliebene Harnsäure) hinzu. In dem Filtrate der Harnsäure werden die Purinbasen entweder durch Kupferfällung oder durch Silberfällung bestimmt.

Durch Kupferfällung.

Das mit Natronlauge alkalisch, dann mit Essigsäure wieder schwach sauer gemachte Filtrat wird auf 70° erwärmt, mit $\frac{1}{2}$ —1 ccm 10%iger Essigsäure und 10 ccm der Aufschwemmung von Braunstein (um die Spuren vorhandener Harnsäure zu oxydieren) versetzt und eine Minute lang geschüttelt, worauf man 10 ccm der Natriumbisulfatlösung, die den im Überschusse vorhandenen Braunstein löst, und 5—10 ccm der 10%igen Kupfersulfatlösung hinzufügt. Man läßt die Flüssigkeit etwa drei Minuten lang kochen, filtriert den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter aus schwedischem Papier, wäscht mit heißem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff der gesamten Purine in bekannter Weise nach Kjeldahl.

Durch Silberfällung.

Man verfährt anfangs, wie bei der Kupferfällung angegeben, nur wird die essigsäure, den Braunstein enthaltende Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht, abgekühlt und mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung und Ammoniak bis zur Lösung des Chlorsilbers versetzt; man gibt noch 10 ccm der Dinatriumphosphatlösung und 5 ccm der Magnesiamischung hinzu, wodurch das Absetzen, Filtrieren und Auswaschen des voluminösen Silberniederschlags wesentlich erleichtert wird. Nach zweistündigem Stehen filtriert man den Niederschlag durch ein Faltenfilter, wäscht mit destilliertem Wasser zur möglichst vollständigen Entfernung von Ammoniak gut aus und spritzt den Niederschlag mit heißem Wasser in einen Rundkolben. Die letzten Spuren Ammoniak werden durch Kochen mit etwas gebrannter Magnesia entfernt, worauf die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen wird.

Beurteilung.

Es gilt hier das bei der Salkowskischen Methode Gesagte. Die Ausführung dieser Methode ist eine wesentlich einfachere, besonders bei Anwendung der Kupferfällung, die nach den von den Verf. angestellten weiteren Versuchen der Silberfällung vorzuziehen ist. Brusch und Schittenhelm halten dieses Verfahren für das beste, einwandfreieste und schnellste.

4. Als weitere empfohlene Bestimmungsmethoden sind noch zu erwähnen:

a) Fällern mit Phosphorwolframsäure.

Eine abgemessene Menge eiweißfreier Harn wird nach F. Hofmeister¹⁾ abwechselnd mit so viel Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag erst mit verdünnter Schwefelsäure (5:100) durch mehrmaliges Dekantieren, dann auf dem Filter chlorfrei gewaschen, mit Bariumhydroxyd im Überschusse in der Wärme zersetzt und das Filtrat durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschusse vom Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, die nun frei von Harnsäure ist, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der alle Xanthinbasen enthaltende Niederschlag gesammelt, aus-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1881. 5. 67.

gewaschen, getrocknet und im Porzellantiegel verascht und geglüht. Das gewonnene Silber wird gewogen; daraus werden die Xanthinbasen und zwar als Xanthin berechnet. Faktor: 0,7037.

b) J. B. Haycraft¹⁾, A. Herrmann²⁾, G. Denigès³⁾ haben nach Salkowski-Ludwig in einem Harnvolumen die Harnsäure, in einem anderen Harnsäure + Purinbasen zusammen bestimmt und die Differenz auf Xanthin berechnet.

Ausführung in der von Herrmann abgeänderten Form nach Haycraft.

50 ccm Harn versetzt man mit je 5 ccm der Ludwigschen Magnesiamischung und Silberlösung, filtriert nach dem Absetzen des Niederschlages erst die Flüssigkeit durch das Filter, verteilt dann, um den Niederschlag locker zu machen, 4 g doppeltkohlensaures Natron in groben Stücken auf der Filterfläche und bringt den Niederschlag quantitativ auf das Filter. Dann wird der Filtrerrückstand, ebenso das Becherglas, gut mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen und der chlor- und silberfrei gewaschene Niederschlag auf dem Filter durch Übergießen mit 20 bis 30%iger ganz reiner, von Chlor und salpetriger Säure freier Salpetersäure gelöst. Man wäscht das Filter mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrate vom gelösten Filtrerrückstande die Menge des Silbers in der S. 80 angegebenen Weise nach der Volhardschen Methode. Nur titriert man hier mit $\frac{1}{50}$ oder $\frac{1}{100}$ Normalrhodanammonium, das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

Von dem gefundenen Gesamtsilber (für Harnsäure + Purinbasen) hat man die der gefundenen Harnsäure entsprechende Menge Silber in Abzug zu bringen; auf 1 g Harnsäure kommen 0,643 g Silber. Aus dem Reste wird die Menge der Purinbasen berechnet. Faktor: 0,7037.

c) Nach G. Denigès.

Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung.
2. Silbermagnesiamischung; 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium löst man in ungefähr 750 ccm 20%igem Ammoniak, füllt mit Ammoniak zum Liter auf und filtriert. 750 ccm der $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung werden mit der Magnesiamischung auf 900 ccm aufgefüllt; 75 ccm dieser Silbermagnesiamischung enthalten 62,5 ccm der Silberlösung.
3. 20%ige Jodkaliumlösung mit 2% Ammoniak.
4. $\frac{1}{20}$ n-Cyankaliumlösung; 10 g reines Cyankalium löst man in etwa 1 Liter Wasser und setzt zur größeren Haltbarkeit 10 ccm 20%iges Ammoniak hinzu. Nach dem Filtrieren mißt man zur Titerstellung 20 ccm des Filtrates in einer Bürette ab, verdünnt mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm 20%iges Ammoniak, dann 10 Tropfen der Jodkaliumlösung hinzu und titriert bis zur bleibenden schwachen Fällung mit der Silberlösung; für die 20 ccm sollen genau 50 ccm Silberlösung verbraucht werden. Die Cyankaliumlösung verdünnt man noch entsprechend; gewöhnlich beträgt das Volumen etwa 1500 ccm. Der Titer muß öfters festgestellt werden.

Ausführung.

100 ccm genau abgemessenen Harnes werden mit 75 ccm der Silbermagnesiamischung versetzt; nach dem Umschütteln wird filtriert, vom Filtrate werden genau 140 ccm abgemessen. Diese versetzt man mit 20 ccm der Cyankaliumlösung, 10 Tropfen der Jodkaliumlösung und titriert dann mit der $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung bis zu der eben bleibenden Trübung. Den verbrauchten Kubikzentimetern der Silberlösung hat man noch $\frac{1}{5}$ dieser hinzuzuzählen, um die für die angewendeten 100 ccm Harn nötige Menge an Silberlösung zu erhalten. In anderen 100 ccm Harn ist die Harnsäure noch für sich zu ermitteln.

1 ccm der $\frac{1}{50}$ n-Silbernitratlösung = 0,00336 g Harnsäure.

Die auf die gefundene Harnsäure treffenden, leicht zu berechnenden Kubikzentimeter Silberlösung zieht man von den bei der obigen allgemeinen Bestimmung verbrauchten ab — für 0,1 g der Harnsäure 29,76 ccm von der verbrauchten —; der Rest kommt den vorhandenen Xanthinbasen zu.

1 ccm = 0,00152 g Xanthin.

Jodhaltige Harnes können erst nach Entfernung des Jod Verwendung finden; zu 100 ccm Harn gibt man 20 ccm $\frac{1}{10}$ n-Silberlösung, 1—2 ccm Salpetersäure, dann 5 ccm gesättigte Kochsalzlösung, füllt zu 200 ccm auf und verwendet das Filtrat.

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1885. 25. 165.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1888. 12. 496.

³⁾ Compt. rend. 1893. 117. 1078.

d) Camerer¹⁾, Arnstein²⁾ fällen den Harn mit Magnesiamischung, das Filtrat mit Silberlösung und bestimmen im Silberniederschlag den Stickstoff. Von diesem wird der Stickstoff der gesondert bestimmten Harnsäure abgezogen.

Ausführung.

240 ccm Harn werden mit 30 ccm der Magnesiamischung versetzt und mit 20% igem Ammoniak zu 300 ccm aufgefüllt. Vom Filtrate werden 125 ccm (= 100 ccm Harn) mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung (S. 217) versetzt; man filtriert und gießt ein nicht ganz klares Filtrat zurück. Man wäscht mit schwach ammoniakhaltigem Wasser Becherglas und Niederschlag aus und entfernt das Ammoniak aus dem durch Trockensaugen etwas rissig gewordenen Niederschlag durch Aufgießen von Wasser (etwa 250–500 ccm). Die letzten Reste Ammoniak beseitigt man dadurch, daß man den Niederschlag mit Wasser und etwas Magnesia kocht und dann nach Kjeldahl oxydiert, nachdem der größte Teil des Wassers durch Kochen entfernt war.

1 ccm $\frac{1}{10}$ n-Schwefelsäure	= 0,0042 g Harnsäure.
100 Teile Harnsäure	= 33,3 Stickstoff.
100 „ Xanthin	= 36,84 Stickstoff.

e) E. L. Kennaway³⁾ fand die Bestimmung nach Camerer-Arnstein verbesserungsbedürftig, da das Silbermagnesiumurat beim Kochen mit Magnesiumoxyd 6–9% Stickstoff in Form von Ammoniak verliert; die Silbersalze der Purinbasen erleiden keinen Verlust. Man läßt zuerst die Harnsäure nach Folin und Shaffer (Methode A) oder nach Hopkins (Methode B) und im Filtrate vom Harnsäureniederschlag die Purinbasen bestimmen. Nach Methode A werden 100 ccm Harn mit Ammoniumsulfat und 10 ccm 15% igem Ammoniak versetzt; das Ammoniumurat wird abfiltriert und nach Folin-Shaffer bestimmt. Ein bestimmter Teil des Filtrates wird mit 10 ccm 20% igem Ammoniak und 10 ccm Magnesiamixtur versetzt; die ausgeschiedenen Phosphate werden abfiltriert. Zu 100 ccm des Filtrates gibt man 10 ccm ammoniakalische Silberlösung, läßt 12 Stunden stehen und führt weiter die Bestimmung nach Camerer-Arnstein aus. Nach Methode B werden 100 ccm Harn mit 10 ccm Ammoniumsulfat und 5 ccm 25% igem Ammoniak versetzt und nach 12 Stunden in eine 250 ccm fassende Maßflasche filtriert. Die Harnsäurebestimmung erfolgt nach Hopkins. Die salzsaure Harnsäuremutterlauge und die Waschwässer werden zu dem in der 250 ccm fassenden Maßflasche befindlichen Filtrate gegeben, wodurch etwa mit der Harnsäure ausgefällte Purinbasen wiedergewonnen werden. Aus der Mischung in der Flasche werden die Phosphate mit 10 ccm 20% igem Ammoniak und 10 ccm Magnesiamixtur ausgefällt. In 240 ccm des Filtrates werden die Purinbasen mit 20 ccm ammoniakalischer Silberlösung gefällt und nach Camerer-Arnstein bestimmt. Die Methoden sollen nur bei Anwendung größerer Urinmengen genaue Resultate geben.

f) L. E. Bonnet⁴⁾ bestimmt in 100 ccm Harn die Harnsäure in der mitgeteilten Weise durch Titration mit Permanganatlösung. In anderen 100 ccm wird die Menge der Xanthinbasen ermittelt. Zu 100 ccm filtrierten Harnes setzt man eine Mischung von 10 ccm Silberlösung und 4 ccm Ammoniak, sowie 10 ccm Magnesiamixtur; nach 4–5 Minuten wird filtriert, der Niederschlag wird mit 20 ccm ammoniakalischem Wasser ausgewaschen, in eine Porzellanschale oder in ein Becherglas abgespritzt und nach Zusatz von 20 ccm konz. Schwefelsäure wieder mit Permanganatlösung titriert.

Beurteilung.

Die Methode soll für klinische Zwecke genügen.

g) L. Garnier⁵⁾ verwendet zur Harnsäurebestimmung das Verfahren nach Folin-Shaffer, zur Purinkörperbestimmung das Verfahren von Denigès; das Garniersche Verfahren hat wieder D. Sauzeat⁶⁾ abgeändert.

5. Für klinische Zwecke empfiehlt A. Jolles⁷⁾ zur Bestimmung der Purinbasen, in dem eiweißfreien Harn einerseits den Harnsäurestickstoff, andererseits den Harnsäure- und Purinbasenstickstoff nach vorhergegangener Oxydation volumetrisch zu bestimmen. Die Differenz beider Ablesungen bezeichnet den Purinbasenstickstoff.

E. Telles⁸⁾ Verfahren beruht auf dem gleichen Prinzip.

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 1890. 26. 104; 1891. 28. 72.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1897. 23. 426.

³⁾ Journ. of Physiol. 1909. 39. 296; Chem. Centralbl. 1909. 80. II. 1948.

⁴⁾ Thèse Lyon. 1903/04.

⁵⁾ Compt. rend. soc. biolog. 1903. 55. 643.

⁶⁾ Journ. Pharm. et Chim. 1912. [7] 5. 164. 445. 485.

⁷⁾ Zentralbl. f. innere Mediz. 1900. 21. Nr. 36.

⁸⁾ Bull. d. Scienc. Pharmacol. 1918. 25. 208.

Thiéry¹⁾ fand, daß man bei Anwendung des von Carrez empfohlenen Zinkkaliumferrocyanids in äquivalenter Menge eine getrennte Bestimmung der Harnsäure neben den Xanthinbasen durchführen kann.

6. L. Niemilowicz²⁾ gibt 2 Verfahren der Purinbasenbestimmung an.

a) Die Oxydations-Filtratmethode.

Prinzip.

Die Wegoxydation der Harnsäure mit Permanganatlösung und Titrierung der übrig bleibenden Purinkörper nach Denigès. Mit dieser Bestimmung der Xanthinbasen ist auch eine solche der Reduktionsfähigkeit des Harnes verbunden, indem durch fraktionierte Oxydation mit Hilfe von Indicatoren Körper mit genügend großen Unterschieden in der Reaktionsgeschwindigkeit quantitativ voneinander getrennt werden können. Man kann also die Reduktionsfähigkeit der Harnsäurestufe und die in Beziehung auf die Reduktionsfähigkeit die Harnsäure ersetzenden Mengen anderer Körper bestimmen.

Erforderliche Reagenzien.

I. Für die Oxydation des Harnes, zur Bestimmung der Oxydationszahl.

1. Wässrige Orthophosphorsäurelösung, spez. Gew. 1,094 = 16,66 Teile Orthophosphorsäure in 100 Teilen Lösung.
2. 0,5%ige wässrige Indigocarminlösung (1 g Indigocarmin puriss. sicc. Grubler: 200 ccm Wasser und filtriert; die Lösung hält sich nicht lange).
3. $\frac{1}{10}$ n-Kaliumpermanganatlösung, also 3,16 g KMnO_4 : 1 Liter.
4. Lackmus- und empfindliches Kongopapier.
5. Schwefligsaures Natrium gepulvert oder frisch bereitete 10%ige Lösung.
6. 20%iges Ammoniak und
7. Käufliche 4%ige Wasserstoffsuperoxydlösung.

II. Reagenzien für die Purinkörper-Bestimmung nach Denigès (S. 237).

Ausführung.

In ein Becherglas zu 500 ccm Inhalt gibt man 100 ccm Harn und prüft seine Reaktion auf blaues Lackmuspapier; bei saurer Reaktion setzt man aus der Bürette zuerst $\frac{1}{2}$ ccm, dann tropfenweise so lange der 16,66%igen Phosphorsäure hinzu, bis eine Reaktion auf Kongopapier zum Vorschein kommt und dann darüber hinaus noch 1,5 ccm derselben Säure.

Ist die Reaktion alkalisch, so fügt man dem Harn verdünnte Salzsäure bis zur sauren Reaktion auf Lackmuspapier zu und verfährt wie angegeben.

Dann gibt man 1 ccm Indigocarminlösung hinzu und versetzt unter fortwährendem Umschwenken tropfenweise — möglichst annähernd ein Tropfen in der Sekunde — so lange mit $\frac{1}{10}$ n-Chamäleonlösung, bis die grünliche Farbe vollkommen verschwunden ist und ein rötlicher oder, bei sehr dünnen Harnen, goldgelber Stich zum Vorschein kommt. Nach einigem Stehen wird die Flüssigkeit nach der ersten Oxydation wieder grün; man beachtet es nicht weiter, sondern setzt sofort zum zweiten Male 1 ccm Indigocarminlösung hinzu und titriert mit Chamäleon wieder bis zum rötlichen Stich, aber viel langsamer als das erstemal; dasselbe wiederholt man zum dritten Male. Jetzt wartet man etwa zwei Minuten ab, bis die Flüssigkeit wieder grünlich geworden ist, und wenn das geschieht, setzt man noch einige Tropfen Chamäleon hinzu, um einen rötlichen Stich zu erzielen, der während zwei Minuten nicht vergeht; ein geringer Überschuß des Permanganats schadet nicht, da er keine Xanthinkörper zerstört. Man notiert sowohl die gesamte Oxydationszahl (= die für die drei Reaktionsteilstrecken zusammen verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ n-Chamäleonlösung — Bruttooxydationszahl), als auch die dritte Teilstrecke, die etwa den elften Teil der ersteren betragen soll. Dann setzt man zu der sauren Flüssigkeit (die Reaktion auf Kongopapier muß stark bleiben) 1 ccm 10%iger frischer Natriumsulfatlösung oder einige Stäubchen des gepulverten Salzes hinzu, um einen Überschuß von Permanganat auf die Oxydul- oder Oxydstufe zu bringen und uroseinartige Farbstoffe zu reduzieren, und läßt einige Minuten (5–10) stehen, bis sich die Flüssigkeit möglichst entfärbt hat. Jetzt gibt man zur Ausfällung und Abscheidung der Erdphosphate und des Mangans $1\frac{1}{2}$ –2 ccm Ammoniak hinzu und bringt das ganze Reaktionsprodukt in einen 200 ccm fassenden Meßkolben; man läßt zum Absetzen der Phosphate stehen, fügt genau 75 ccm Silbermagnesiainischung nach Denigès hinzu und füllt unter Zusatz von 2 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung mit Wasser bis zur Marke 200 ccm auf. Man mischt und stellt 15–25 Minuten ins Dunkle. (Schwach reduzierende Harnen läßt man 25 Minuten stehen.) Man filtriert erst die Flüssigkeit ab, bringt den Niederschlag auf das (doppelte) Faltenfilter und filtriert das Filtrat, im Falle es nicht ganz klar sein sollte, nochmals. Von dem

¹⁾ Journ. Pharm. et Chim. 1921 [7] 23. 494.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 35. 264.

ganz klaren Filtrate werden genau 160 ccm abgemessen und 22 ccm der Cyankaliumlösung, dann 10 Tropfen Jodkaliumlösung hinzugesetzt; nun wird vorsichtig tropfenweise mit $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung bis zur ersten bleibenden Trübung, die sich beim Umschwenken auch nach zwei Minuten nicht auflösen darf, titriert.

1 ccm $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung = 0,0019 g Xanthinbasen, als Xanthin berechnet.

Bei den Harnen, die eine geringere Bruttooxydationszahl (s. oben) als 8 haben, ist es notwendig, den Harn bei schwach saurer Reaktion (auf Lackmus) zu konzentrieren, bei höher oxydierbaren Harnen (über 14 Bruttooxydationszahl) verdünnt man zu einer Oxydationszahl von etwa 12 oder man muß die Nettooxydationszahl berechnen, die berechnete Menge der n-Chamäleonlösung dem ursprünglichen, entsprechend angesäuerten Harne ohne Indigocarmin tropfenweise zusetzen und dann weiter wie oben verfahren.

Es muß betont werden, daß absolut klare Filtrate nötig sind; jodhaltige, bakterientrübe Harne eignen sich nicht; das Abmessen der Silbermagnesiummischung, der Cyankalium- und Silberlösung hat peinlichst genau zu erfolgen, die Pipetten, Büretten und Meßkolben müssen genau geeicht sein und zusammenstimmen, da ein Tropfen Silberlösung zuviel schon in Betracht kommt und Fehler bedingt. Die Einstellung der Cyankalium- und Silberlösung wird außer nach dem Verfahren von Denigès nochmals in folgender Weise kontrolliert: Man gibt in den 200 ccm fassenden Meßkolben 100 ccm Wasser, 4 ccm 16,66%ige Orthophosphorsäure, 4 ccm Normalätzsoda, 1 ccm 10%iges Natriumsulfit und darauf 2 ccm 20%iges Ammoniak, dann 75 ccm Silbermagnesiummischung nach Denigès und füllt bis zur Marke auf. Man schüttelt um, filtriert durch ein doppeltes Faltenfilter in ein trockenes Gefäß etwa 180 ccm und mißt ganz genau 160 ccm ab. Man setzt 22 ccm der Cyankaliumlösung, dann zehn Tropfen 10%ige Jodkaliumlösung hinzu und titriert mit $\frac{1}{50}$ n-Silberlösung, indem man die ersten 4 ccm unter Umschwenken schneller zusetzt und dann tropfenweise unter Umschwenken bis zur bleibenden Trübung titriert, die durch zwei Minuten bestehen bleiben muß.

b) Die Oxydations-Niederschlagsmethode zur Bestimmung der Xanthinkörper im Harne.

Prinzip.

Oxydation des Harnes mit Chamäleon in saurer Lösung; Eindampfen in saurer Lösung; Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung; Bestimmung des Silbers im Niederschlag.

Erforderliche Reagenzien.

1. Orthophosphorsaure Lösung, wie bei a.
2. $\frac{1}{10}$ n-Chamäleonlösung.
3. Schwefligsaures Natrium.
4. 20%iges Ammoniak.
5. Ammoniakalische Silberlösung nach E. Ludwig (S. 217).
6. $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammiumlösung.
7. 2,5%ige Eisensulfatlösung.
8. Reine konz. Salpetersäure.
9. Käufliches 4%iges Wasserstoffhyperoxydwasser.
10. Asbestfilter nach Hayercraft-Herrmann (auch Gooch'scher Tiegel).

Ausführung.

Bei diesem Verfahren ist eine etwas andere Vorbereitung des Harnes notwendig. Es muß hier die sog. korrigierte Nettooxydationszahl des Harnes bestimmt werden.

Es wird, wie bereits bei a angegeben, die Bruttooxydationszahl bestimmt; die Nettooxydationszahl erhält man, wenn man von der Bruttooxydationszahl (die Gesamtmenge in Kubikzentimetern der $\frac{1}{10}$ n-Chamäleonlösung, verbraucht für die dreimalige Oxydation für Harn und Indigocarmin) die Menge in Kubikzentimetern der $\frac{1}{10}$ n-Chamäleonlösung, verbraucht für die verwendeten Kubikzentimeter Indigocarmin allein, in Abzug bringt.

Für das Gelingen der Methode ist es notwendig, die Nettooxydationszahl womöglich immer bei der Bruttooxydationszahl 8 zu bestimmen, da bei stark konzentriertem und infolgedessen hoch oxydablem Harne die eigentliche Nettooxydationszahl sonst zu niedrig ausfällt. Die notwendige Verdünnungsformel gibt die Gleichung

$$\frac{\text{Nettooxydationszahl}}{7} = v.$$

In dem nach dieser Formel verdünnten Harne bestimmt man die Bruttooxydationszahl (*BrO* verd.), die nach Abzug der für das Indigocarmin verbrauchten Zahl (*JCO*) die Nettooxydationszahl (*NO* verd.) ergibt. Diese letztere, durch die Verdünnung *v* multipliziert, gibt die korrigierte Nettooxydationszahl (*NO* korrig.).

Zu 500 ccm Harn setzt man in einem 1 Liter fassenden Becherglase die fünffache Menge der notwendigen Menge an Orthophosphorsäure (wie S. 239 ermittelt) und hierauf tropfenweise die fünffache Menge der der korrig. Nettooxydationszahl entsprechenden Kubikzentimeter $\frac{1}{10}$ n-

Chamäleonlösung. Dabei muß der Harn unausgesetzt heftig gemischt werden, was man am besten durch Durchleiten eines kräftigen Luftstromes mit einem Wasserstrahlgebläse oder dergleichen erreicht. Die Tropfen Chamäleonlösung können zuerst schneller, aber zählbar nacheinander folgen, die letzten 10 ccm setzt man langsamer hinzu. Das Reaktionsprodukt versetzt man mit 1 ccm 10%igen Natriumsulfits und läßt die saure Lösung entsprechend, und zwar im Verhältnisse zum spezifischen Gewicht des ursprünglichen Harnes, eindampfen. Man dampft auf dasjenige Volumen oder Gewicht ein, das durch die vier Dezimalen des spezifischen Gewichtes des ursprünglichen Harnes angezeigt wird + 20 ccm; man macht sich zu diesem Zwecke schon von vornherein am Eindampfgefäß eine Marke. Das Eindampfen geschieht zuerst über freiem Feuer und zwar solange, bis die ausgeschiedenen basischen Erdphosphate starke Trübung und Stoßen hervorrufen, dann auf dem Wasserbade bis zur Marke; ein derartiges Eindampfen hat den Vorteil, daß man annähernd immer bei gleicher Konzentration arbeitet. Den Abdampfdruckstand läßt man abkühlen, versetzt ihn mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion, gießt die Flüssigkeit in ein Zylinderglas über, spült mit wenig Wasser nach und ergänzt auf die nächste runde Zahl. Nach einigem Stehen filtriert man $\frac{9}{10}$ ab, setzt zu dem Filtrate auf je 25 ccm desselben 2 ccm konzentriertes Ammoniak, dann auf je 50 ccm Flüssigkeit 1 ccm käufliches Wasserstoffsuperoxydwasser und wartet einige Minuten, bis sich die schwärzliche Flüssigkeit aufhellt und in dünner Schicht gelb wird. Darauf gibt man 5–10 ccm ammoniakalische Silberlösung nach Ludwig hinzu. Etwa ausfallende weiße Silberniederschläge werden durch tropfenweisen Ammoniakzusatz unter Umschwenken gelöst. Nachdem sich der Xanthinkörpersilberniederschlag flockig abgeschieden hat, setzt man 5 ccm Magnesiamischung hinzu und läßt vollkommen absetzen. Dann filtriert man durch ein Asbestfilter die überstehende Flüssigkeit ab und gießt gleichzeitig auf den Bodensatz 50 ccm schwach ammoniakalisches Wasser (0,4%ig) auf, um durch Dekantieren den Niederschlag zu waschen. Während sich der letztere absetzt, wäscht man das Filter mit Ammoniakwasser durch dreimaliges Aufgießen aus. Man dekantiert die Flüssigkeit vom Niederschlage, auf den man wieder frisches Wasser aufgießt, wäscht das Filter dreimal aus und wiederholt diese Operation noch einmal (zusammen dreimal), bis das über dem Niederschlage stehende Wasser nur ganz schwach gefärbt erscheint. Jetzt bringt man auf das Filter zuerst die überstehende Flüssigkeit, wäscht das Filter dreimal aus, bestreut es mit 4 g Natriumbicarbonat in gröblichen Stücken, gibt dann erst den Niederschlag darauf, wäscht ihn an der Pumpe, bis er rissig wird, aus und dann (Vorsicht beim Abstellen der Pumpe, daß keine Luft zurücksteigt!) ohne Pumpe, bis er vollkommen silber- und chlorfrei ist. Der ausgewaschene Niederschlag wird an der Pumpe vom Wasser möglichst befreit, dann durch zweimaliges Aufgießen, Stehenlassen und Absaugen mit je 3 ccm reiner kalter Salpetersäure (1,20) gelöst, der Rückstand zweimal mit je 3 ccm derselben Säure siedend heiß behandelt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Das etwa 150 ccm betragende Filtrat wird zum Abstumpfen der Salpetersäure mit 3 ccm chlorfreiem konzentriertem Ammoniak versetzt, dann 5–10 ccm 2,5%ige Eisensulfatlösung hinzugegeben und mit $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammonium titriert, 1 ccm $\frac{1}{50}$ n-Rhodanammonium = 1,68 mg Xanthinkörper als Xanthin berechnet.

Beurteilung.

Nach G. Gittelmacher-Wilenko¹⁾ gibt dieses Verfahren brauchbare Zahlen. Bei Rheum enthaltendem Harn ist die Farbe etwas störend.

7. Klinische Bestimmungsmethode mit dem „Purinometer“ nach Walker Hall.²⁾

Die Beschreibung der Ausführung dieser Methode liegt dem Purinometer bei. Dieser besteht aus einem graduierten Zylinder, der durch einen durchbohrten Hahn in zwei Teile geteilt ist. Bei geschlossenem Hahn werden 90 ccm des eiweißfreien Harnes und 20 ccm der Lösung I (Ludwigs Magnesiamischung 100 ccm, 20%ige Ammoniakflüssigkeit 100 ccm, Talkum 10 g) in den Zylinder gebracht. Die gefällten und abgesetzten Phosphate werden nach Öffnen des Hahnes im unteren Teil des Apparates gesammelt. Der Hahn wird wieder geschlossen, von der Lösung II (1 g Silbernitrat, 100 ccm starke Ammoniakflüssigkeit, 100 ccm Wasser, 5 g Talkum) bis zur Marke 100 zugefügt und der Purinometer nach dem Umschütteln 24 Stunden bei Lichtabschluß beiseite gestellt. Die Menge des Niederschlages in Kubikzentimetern multipliziert man mit 1,5 und einer für jeden Apparat besonders bestimmten Größe (etwa 0,001) = % des Stickstoffs.

Beurteilung.

Die Bestimmung ist eine nur annähernde und kann für eine genaue Prüfung nicht empfohlen werden.

Wahl der Methode.

Die unter 1 und 3 angeführten Verfahren gelten als die besten; es geben auch die übrigen brauchbare Zahlen.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 36. 20.

²⁾ Wien. klin. Wochenschr. 1903. 16. 411.

Vor Bestimmungen mit Apparaten (Uricometern u. a.) warnen Brugsch und Schittenhelm, weil damit keine gleichmäßigen und exakten Zahlen gewonnen werden können.

19—21. Die Proteinsäuren. Antoxyproteinsäure. Oxyproteinsäure. Alloxyproteinsäure.

Vor Jahren haben Bondzyński und Gottlieb¹⁾, sowie Bondzyński und Panek²⁾ aus normalem Menschenharn zwei stickstoff- und schwefelhaltige Säuren erhalten, die sie Oxyproteinsäure und Alloxyproteinsäure nannten.

Schon früher hatten C. Voit³⁾, M. v. Pettenkofer und C. Voit⁴⁾ im Harn eine stickstoff- und schwefelhaltige Substanz beobachtet, die ebenso wie der Harnstoff mit Mercurinitrat reagierte.

Bondzyński, Dombrowski und Panek⁵⁾ fanden bei späteren Untersuchungen, daß noch ein weiterer Körper vorhanden sein mußte, da sich in den gewonnenen Salzen keine Übereinstimmung ergab; sie isolierten auch noch eine weitere Säure, der sie den Namen Antoxyproteinsäure gaben. Diese letzte Säure soll nun jene Verbindung darstellen, die die bekannte Diazoreaktion, die carminrote Färbung mit der Diazobenzolsulfosäure bei der Ausführung der Probe nach Ehrlich, sowie mit dem Paradiazoacetophenon nach Friedenwald gibt. Ob die Antoxyproteinsäure derjenige Körper ist, der die in verschiedenen Krankheiten beobachtete Färbung des Harnes mit den Diazoreagenzien gibt, bleibt vorläufig dahingestellt. Nach den Untersuchungen von M. Weiss⁶⁾ ist der die Ehrlichsche Diazoreaktion verursachende Körper zwar reichlich in der sogenannten Antoxyproteinsäurefraktion zu finden, die Ursache der Reaktion ist eine in ihren Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren übereinstimmende Substanz unbekannter Natur, die ihren Eigenschaften entsprechend als Urochromogen bezeichnet werden kann. Auf Grund ihrer Untersuchungen weisen zwar F. Browinski und St. Dombrowski⁷⁾ darauf hin, daß keine von den Oxyproteinsäuren Muttersubstanz des Urochroms (Urochromogens) sein kann, wie M. Weiss vermutet, doch siehe bei Urochrom. Die Anschauungen von Weiss könnten nach meiner Meinung größere Klarheit bringen.

Die Bildung der hochmolekularen Säuren wird in engen Beziehungen zum Eiweißstoffwechsel stehen müssen; die 3 Säuren sind wohl als Produkte einer unvollständigen Zersetzung der Eiweißstoffe aufzufassen; sie enthalten ungefähr dieselbe Stickstoffmenge, wie Eiweiß selbst und weiter eine recht große Menge Schwefel, die Proteinsäuren scheinen die Natur des sogenannten neutralen Schwefels im Harn zu erklären. Nach W. Ginsberg⁸⁾ sind die

¹⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1897. 577.

²⁾ Berl. Bericht. 1902. 35. 2959.

³⁾ Zeitschr. f. Biolog. 1865. 1. 127. 146.

⁴⁾ Ebenda. 1866. 2. 470.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 46. 83.

⁶⁾ Biochem. Zeitschr. 1910. 27. 175; 1911. 30. 333.

⁷⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1912. 77. 92.

⁸⁾ Beiträge chem. Physiol. Patholog. 1907. 16. 411.