

schränk) auskrystallisieren gelassen. Die ausgeschiedenen Krystalle werden durch Waschen mit kaltem Wasser von Benzoylcystin und Natron befreit, in wenig warmem Weingeist gelöst und aus dieser Lösung mit Wasser wie oben ausgeschieden. Diese Menge wird mit der schon gewonnenen vereinigt.

Zur Trennung der beiden Diamine werden die Krystalle mit wenig warmem Weingeist gelöst; die Lösung wird in das 20fache Volumen Äther gegossen. Die Benzoylverbindung des Tetramethyldiamins krystallisiert aus, die des Cadaverins bleibt in Lösung. Man krystallisiert beide aus Alkohol um.

Benzoylpentamethyldiamin (Benzoylcadaverin), $C_5H_{10}(NH \cdot COC_6H_5)_2$; $N = 9,03\%$; Schmelzpunkt 130° .

Benzoyltetramethyldiamin (Benzoylputrescin), $C_4H_8(NH \cdot COC_6H_5)_2$; $N = 9,46\%$; Schmelzpunkt $175-176^\circ$.

2. A. B. Griffiths¹⁾, der Ptomaine aus dem Harne isolierte, die sich bei einigen infektiösen Krankheiten fanden, befolgte zur Isolierung dieser Ptomaine nachstehendes Verfahren.

Der mit wenig Natriumcarbonat alkalisch gemachte Harn wurde mit dem halben Volumen Äther und die Ätherlösung mit einer Weinsäurelösung zur Bildung löslicher Tartrate ausgeschüttelt. Die Weinsäurelösung wurde nach dem Alkalischemachen mit Soda mit dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung verdunstet; die Ptomaine blieben als Rückstand.

A. Loewy und C. Neuberg²⁾ haben ebenfalls ein Verfahren zur Isolierung und zur quantitativen Bestimmung der beiden Basen angegeben; hier werden die Phenylisocyanatverbindungen hergestellt.

Eigenschaften.

Die beiden Ptomaine bilden farblose Flüssigkeiten mit Spermaeruch, rauchen an der Luft, sind leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol und Äther. Cadaverin ist sehr schwer löslich in Äther. Die beiden Diamine sind zweisäurige Basen; sowohl die freien Basen, wie die Chloride geben mit den gebräuchlichen Alkaloidreagenzien Niederschläge. Charakteristisch sind die Dibenzoylverbindungen, die krystallisieren.

Das Trimethylamin soll sich nach den Forschungen von de Filippi³⁾ als normaler Bestandteil des Harnes vorfinden. Nach Takeda⁴⁾ ist es zweifelhaft, ob das Trimethylamin präformiert im Harne vorhanden ist, es könnte auch durch Zersetzung anderer Stoffe entstanden sein. Letzterer gibt einen Nachweis, Filippi eine Methode zur quantitativen Bestimmung an.

41. Lösliche Fermente oder Enzyme.

Im frischen Menschenharn sind Enzyme mit den gleichen Eigenschaften vorhanden, wie die von den Körperorganen abgesonderten. Normale Harn-

¹⁾ Compt. rend. 1891. 113. 656; 1893. 116. 1206.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1904. 43. 352.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1906. 49. 433.

⁴⁾ Archiv Physiol. 1909. 129. 82.

bestandteile sind Pepsin und Diastase; Trypsin kommt nur unter bestimmten Verhältnissen vor. Das Vorkommen eines Labfermentes wurde beobachtet (Grützner); ob fettsplattende Enzyme vorkommen können, ist nicht sichergestellt; Lipase soll bisweilen mit dem Harne ausgeschieden werden.

Ob eine Bedeutung und welche den Fermenten zukommt, ob sie physiologische Funktionen ausüben, ist nicht bekannt, jedenfalls handelt es sich um Produkte, deren Ausscheidung von verschiedenen Einflüssen — Erzeugung der Fermente, Fermentgehalt des Blutes, Störungen der Tätigkeit der Organe, Nieren usw. — abhängig oder bedingt sein wird.

I. Harnpepsin.

Die Menge des Pepsins, das sich im Harne der Fleischfresser regelmäßig vorfindet, ist veränderlich; sie ist nur eine geringe; im Morgenharne wurde eine weit größere Menge vorgefunden, als im Nachmittagsarne. Die Quelle des Harnpepsins ist die Magenschleimhaut. Die Anschauung von Grützner, F. Gehrig, dann von A. Ellinger und H. Scholz¹⁾, daß das peptische Ferment in der Hauptsache von dem aus der Magenschleimhaut ins Blut übergegangenen Propepsin stammt, scheint sehr wahrscheinlich zu sein. E. Fuld und K. Hirayama²⁾ nehmen an, daß das Pepsin im Harne als Zymogen vorhanden ist, das durch die Einwirkung von Säure in aktives Pepsin verwandelt wird.

Bei Diabetes soll die Harnpepsinmenge vermehrt sein; eine Verminderung soll eintreten bei Magencarcinom, Ulcus ventriculi, Phtise, Achylie und Typhus; in vorgeschrittenen Fällen von Magencarcinom kann sie sehr gering sein, oft soll gar kein Pepsin mehr vorhanden sein.

1. Nachweis durch Fibrin.

Etwa 30 ccm frischer Harn wird mit einer gekochten Fibrinflocke — man wäscht Rinderblutfibrin mit Wasser aus und kocht zur Zerstörung etwa vorhandener Enzyme das Fibrin in Wasser — versehen und das Ganze nach Zugabe von etwas Toluol etwa 3 Stunden im Eisschranke belassen; es wird auch empfohlen, durch den frischen Harn nach dem Hinzugeben einiger gekochter Fibrinflocken einen schwachen Luftstrom (mit Hilfe eines Aspirators) zu leiten, um das Fibrin mit dem Enzyme in möglichste Berührung zu bringen; man kann auch dem Harne (200—500 ccm) durch eintägiges Digerieren mit etwas gekochtem, feinverteiltem Fibrin die Fermente entziehen.

Die auf die eine oder die andere Weise mit dem Enzyme angereicherten Fibrinflocken wäscht man aus und bringt sie in etwa 20 ccm einer 0,2%igen Salzsäurelösung; diese läßt man etwa 16—24 Stunden im Brutschranke bei 37—40° stehen; nach dieser Zeit wird das Fibrin ganz oder zum Teile verdaut sein, die Flüssigkeit ist mehr oder weniger

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1910. 57. 1845; Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1910. 99. 221.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. 1062.

trüb, opalisierend und gibt die Biuretreaktion. Im Kontrollversuche mit gekochtem Harn ist die Flocke bloß gequollen, die darüber stehende Flüssigkeit klar, die Biuretreaktion negativ.

Beurteilung.

Das Verfahren zu einer annähernden quantitativen kolorimetrischen Bestimmung zu verwenden, wie von Grützner vorgeschlagen (— es wurde Carminfibrin verwendet, dessen Farbstoff in derselben Menge frei werden und die Flüssigkeit färben soll, als Fibrin zur Auflösung kommt —), ist nicht möglich, da Harn nur eine niedrige Pepsinkonzentration besitzen; wichtig ist die Harnreaktion; wenn sich diese der alkalischen Reaktion nähert oder alkalischer Harn vorliegt, kann das Verfahren im Stiche lassen.

2. Nachweis durch das Caseinverfahren.

Das von O. Gross¹⁾ ausgearbeitete Verfahren hat Brodzki²⁾ für die Verhältnisse im Harn umgestaltet.

1 g (ganz genau gewogen) Casein wird zu 25 ccm saurem, gut gemischtem Harn, der mit 20 ccm Wasser verdünnt ist, zugesetzt, dazu werden noch 2 ccm $\frac{1}{10}$ Salzsäure und 1 ccm Toluol gegeben; das Kölbchen wird für 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° eingestellt. In gleicher Weise wird vorher abgekochter Harn behandelt.

Nach dieser Zeit versetzt man die 2 Proben zunächst mit etwa 5 g Natriumchlorid, neutralisiert sie mit Normallauge und erwärmt bis zu etwa 70°; das nicht verdaute Casein fällt man durch tropfenweisen Zusatz von 1 ccm Eisessig unter Schütteln aus, erwärmt noch kurze Zeit im Wasserbade (zum besseren Zusammenballen) und filtriert durch ein Faltenfilter. Die Filtrate füllt man mit Wasser zu 50 ccm auf und bestimmt in 10 ccm (= 5 ccm Urin) den Stickstoff nach Kjeldahl. Die Differenz zwischen der eigentlichen Probe und der Kontrollprobe ergibt ein Maß für die vorhandenen Fermente.

Ellinger und Scholz³⁾ vereinfachten den Nachweis.

Erforderliche Lösungen:

1. 1 g Casein in 1000 ccm Wasser, das 16 ccm 25%iger Salzsäure enthält. Man verreibt das Casein in einer Schale mit Salzsäure, gibt Wasser hinzu und erhitzt 1 Stunde im kochenden Wasserbade.
2. Eine gesättigte Natriumacetatlösung.

Es werden 6 Röhren mit je 10 ccm der Lösung 1 und dann mit 0,1 ccm, 0,5, 1,0, 2,0 usw. mit Harn beschickt; mit gekochtem Harn wird auf 12 ccm aufgefüllt; die Röhren werden $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunden bei 40° gehalten. Die Prüfung auf stattgefundene Verdauung geschieht durch Zusatz von je $\frac{1}{2}$ ccm der Natriumacetatlösung, durch die nur das unverdaute Casein, nicht die Verdauungsprodukte gefällt werden. Es kann dann festgestellt werden, ob eine Harnmenge das Casein ganz oder wenig oder gar nicht verändert.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1908. 45. 643.

²⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1907. 63. 537.

³⁾ a. a. O.

3. Das Ricinverfahren.

Die Jacoby-Solmssche Ricinmethode hat G. Wilenko¹⁾ für die Zwecke der Pepsinbestimmung im Harn in Anwendung gezogen.

Lösung.

1 g Ricin wird in 100 ccm einer 0,5%igen Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann filtriert.

Von der 24stündigen Harnmenge — der Harn muß eiweißfrei sein — wird ein Teil mit starker Salzsäure tropfenweise versetzt, bis Kongopapier beginnende Blaufärbung anzeigt. Ein Teil des Harnes wurde aufgekocht und dann wieder abgekühlt.

In 5 gleiche Reagenzgläser bringt man je 0,5 ccm der Ricinlösung, in 4 je 0,3 ccm $\frac{n}{10}$ Salzsäure, in das fünfte 0,5 ccm $\frac{n}{10}$ Salzsäure. Nun wird der gekochte Urin, zur gleichmäßigen Verdünnung dienend, in die Röhren gefüllt und zwar in eines der Röhren — Kontrollröhren — 1,0 ccm des gekochten Harnes, in ein zweites 0,8, in ein drittes 0,5 ccm gekochten Urins. Hierauf füllt man den auf seine Pepsinwirkung zu prüfenden ungekochten Urin ein; das Kontrollröhren wird übergangen, in das Röhren mit 0,8 ccm gekochtem Urin kommt 0,2 ccm Urin, in das mit 0,5 ccm gekochtem Urin 0,5 ccm Urin. In die noch übrigen beiden Röhren mit 0,3 und mit 0,5 ccm Salzsäure füllt man 1 ccm und 2 ccm des ungekochten Urins.

Nr. In allen Proben je 0,5 ccm Ricinlösung	$\frac{n}{10}$ HCl in ccm	Gekochter Urin in ccm	Ungekochter Urin in ccm	
I	0,3	1,0	—	Kontrolle
II	0,3	0,8	0,2	
III	0,3	0,5	0,5	
IV	0,3	—	1,0	
V	0,5	—	2,0	

Die mit Stopfen versehenen Röhren werden bei 37° in den Brutschrank gestellt und nach 6 Stunden geprüft. Das Röhren, in dem die Ricintrübung bis auf Spuren aufgehellt ist, dient als Maßstab für die Berechnung der Pepsinwirkung des Harnes; nach Wilenko wird der Wirkungsgrad in Einheiten ausgedrückt. Wenn z. B. 1 ccm Urin die Menge ist, welche gerade die Ricinlösung aufhellt, so würde 1 ccm eine Einheit darstellen; beträgt die 24stündige Tagesmenge 2000 ccm, so würde die tägliche Pepsinwirkung des Harnes 2000 Einheiten ausmachen; zur größeren Genauigkeit können die zu untersuchenden Urinmengen noch feiner abgestuft werden; also nach Mengen zwischen 1,0—2 ccm.

Hochgestellte Urine sind zum Ausschließen der störenden Salzwirkung vor der Untersuchung mit Wasser zu verdünnen.

Ellinger und Scholz haben auch dieses Verfahren abgeändert.

¹⁾ Berlin, klin. Wochenschr. 1908. 45. 1060.

Man beschickt 5 Reagenzgläser mit je 2 ccm der klaren Ricinlösung, erhalten durch Behandeln von 1 g Ricinpräparat in 100 ccm 5%iger Kochsalzlösung und Filtration, fügt zu jedem Röhrchen 0,5 ccm $n/10$ HCl, worauf eine dichte Trübung entsteht. Dann werden fallende Mengen des unverdünnten Urins zugesetzt: 2, 1, $1/2$, $1/4$, 0 ccm. Mit gekochtem Harn werden sämtliche Proben auf das Gesamtvolumen von $4\frac{1}{2}$ ccm ergänzt. Nach 18—24stündigem Stehen im Brutschranke bei 37° liest man ab.

4. Das Edestinverfahren.

Von E. Fuld und K. Hirayama (a. a. O.) wurde die Fuld'sche Edestinprobe auf den Harn angewendet.

Vom gesamten Tagesharn werden 9 ccm genommen und mit 1 ccm $n/1$ Salzsäure angesäuert; fallende Mengen zwischen 2 ccm und 0,2 ccm davon werden in kleine Reagenzröhrchen gebracht und dazu 2 ccm der 1%igen Edestinlösung. Diese wird so hergestellt, daß 1 g Edestinpulver in 1000 Teilen Wasser, das 30 ccm Normalsalzsäure enthält, aufgelöst, aufgekocht und unter Toluol verwahrt wird. Die Röhrchen bleiben bei 40° eine Stunde im Wasserbade, werden dann in kaltem Wasser abgekühlt und mit je 6—9 Tropfen einer gesättigten Kochsalzlösung versetzt. Man beobachtet, welche Proben getrübt werden und berechnet den Pepsingehalt des Harnes nach der geringsten Urinmenge, bei der keine Trübung eintritt.

II. Harndiastase.

Die Diastase (das diastatische, amylolytische Ferment) kommt im Harn ebenfalls in wechselnden Mengen vor; nach der Hauptmahlzeit ist sie am größten, unmittelbar vor der Mahlzeit am geringsten, im Hungerzustande ist sie fast verschwindend. Vom Manne soll mehr Diastase ausgeschieden werden, als vom Weibe.

Untersuchungen im Bereiche der menschlichen Pathologie ergeben wenig übereinstimmende Werte. Bei schwerem Diabetes soll die Menge gering, beim Verschlusse der Pankreasausführungsgänge eine hohe sein.

Nach J. Bang¹⁾, F. Falk und H. Eppinger²⁾ besitzt die Diastase kaum irgendwelche diagnostische Bedeutung.

Nachweis und Bestimmung.

Der Nachweis erfolgt durch die Eigenschaft der Diastase, Stärke abzubauen (Verschwinden der Jodreaktion).

J. Wohlgemuth³⁾, der diese Prüfung auch für die funktionelle Nierendiagnostik empfiehlt, verfährt in nachstehender Weise. (Klopstock-Kowarsky.) Zwei Reihen von je zehn numerierten Reagenzgläsern werden mit absteigenden Mengen Urin (bei der Nierenprüfung von jeder Niere) in

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Neubauer-Hupperts Lehrbuch der Harnanalyse. F. W. Kreidel, Wiesbaden 1913.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1910. 47. Nr. 31; Zeitschr. Biolog. 1909. 21. 432.

der Weise beschickt, daß ins erste Gläschen 0,5 ccm, ins zweite 0,4, ins dritte 0,3, ins vierte 0,2, ins fünfte 0,1, ins sechste 0,9 des nun zehnfach verdünnten Urins, ins siebente 0,8 usw. kommen. Dann wird jedes Reagenzglas mit 1 %iger Kochsalzlösung bis zu 1 ccm aufgefüllt; zu jedem Gläschen werden nun 2 ccm einer 1 % Stärlösung (Kahlbaums lösliche Stärke) hinzugefügt. Nun kommen sämtliche Röhrchen in ein Wasserbad von 38° — man bedient sich sehr zweckmäßig des Reischauerschen Sternes — und bleiben darin 30 Minuten; nach dem Abkühlen in kaltem Wasser setzt man zu dem Inhalte eines jeden Glases 1—2 Tropfen $\frac{n}{50}$ Jodlösung und rührt um. Die vollständig abgebaute Stärke enthaltenden Röhrchen nehmen eine gelbe oder rotbraune Farbe an, die unveränderte Stärke enthaltenden werden blaurot oder blau. Das erste in der Reihe blaurot gefärbte Gläschen gilt als unterste Grenze der Wirksamkeit und als „limes“.

Bei der Berechnung wird festgestellt, wieviel Stärlösung durch 1 ccm Urin in der Versuchsdauer abgebaut wird; als Maß der Fermentwirkung gilt nicht das Limesröhrchen, sondern das nächst höhere. Wurde z. B. das neunte Röhrchen blaurot, so wird für die Berechnung das achte (0,07 Urin) genommen — Fermentmenge $x = \frac{2}{0,07} = 28,5$ Fermenteinheiten. Beim Menschen soll der Diastasewert nach Wohlgemuth in der Norm $D \frac{38^{\circ}}{24^{\circ}} = 156$ nicht übersteigen.

E. Müller¹⁾ gibt zum Nachweise der Diastase im Harne ein Verfahren mit Hilfe von Stärkekleisterplatten an.

III. Harntrypsin und Antitrypsin.

Ob ein tryptisches Enzym im Harne vorhanden ist, scheint noch nicht sicher entschieden zu sein. In pathologischen Fällen soll es bisweilen beobachtet worden sein.

Zum Nachweise sind die Fibrinflocken- und die Caseinmethode empfohlen nur mit dem Unterschiede, daß statt der dort verwendeten Salzsäure die entsprechend konzentrierte Sodalösung in Anwendung kommt.

IV. Labferment.

Auch hier decken sich die Angaben über die Anwesenheit von Lab nicht.

F. Helwes²⁾ gibt zum Nachweise folgendes Verfahren an.

Man bringt 5 ccm frische Milch, 1 ccm 0,6 %ige Salzsäure und 5 ccm Harn zusammen; die Milch gerinnt bei Körpertemperatur in wenigen Minuten, wenn Labferment vorhanden ist. Zur Kontrolle dient gekochter Harn; hier darf keine Gerinnung erfolgen.

E. Fuld und K. Hirayama³⁾ versetzen 9 ccm Harn mit 1 ccm $\frac{n}{1}$ Salzsäure; nach 10—15 Minuten neutralisiert man die Säure durch $\frac{n}{1}$ Lauge; hiedurch ist das im Harne vorhandene Zymogen in aktives Ferment über-

¹⁾ Verh. 25. Kongr. f. inn. Mediz. 1908. S. 160.

²⁾ Pflügers Archiv Physiol. 1888. 43. 384.

³⁾ a. a. O.

geführt. Zu dem Urin gibt man dann ein Zehntel seines Volumens (also 1,2 ccm) 20%iger Chlorcalciumlösung und bringt Mengen von 0,2—2 ccm zu je 5 ccm ungekochter guter Magermilch. Die Proben bringt man 1 Stunde lang in ein Wasserbad von 20°, dann 5 Minuten lang in ein solches von 40°. Der Enzym- oder Zymogengehalt des Harnes wird ermittelt, daß man die Probe mit der kleinsten Urinmenge aussucht, die gerade noch die zugesetzte Milch zum Gerinnen gebracht hat.

V. Lipase.

Zum Nachweise werden zu je 1 ccm Harn 2 ccm Milch, die mit einer 1%igen Sodalösung alkalisch gemacht und mit Lackmus blau gefärbt wird, hinzugefügt. Bei Brutwärme soll ein vorhandenes Lipaseferment aus der Milch Fettsäuren entwickeln, die Flüssigkeit soll rot gefärbt werden. (Rosenberg.)

H. Pribram und J. Loewy¹⁾ messen den Lipasegehalt des Harnes durch die spaltende Wirkung gegenüber einer neutralisierten Lösung von Monobutyryn.

VI. Proteolytische Zellfermente.

Solche können im Harn beim Vorhandensein und Zerfalle von Leukocyten auftreten, wobei die intrazellulären, proteolytischen Enzyme freigemacht werden, so bei Cystitis, Pyelitis, einzelnen Formen von Nierenkrankheiten, bei Menstruation.

Man bringt einen Tropfen Harn auf eine Löfflersche Blutserumplatte und beläßt sie 24—48 Stunden bei 50—60° im Brutschranke; beim Vorhandensein von Ferment bildet sich an der Stelle des Harntröpfens eine seichte Vertiefung.

Tyrosinasen nennt man, um dies noch zu erwähnen, Fermente, die Tyrosin, Phenylalanin, Homogentisinsäure, Adrenalin und noch andere Verbindungen in dunkelgefärbte Substanzen verwandeln; sie sind von den sog. Phenolasen, die Phenole unter Farbstoffbildung verändern, verschieden; beide sind echte Oxydasen und bewirken die gleichen chemischen Vorgänge, nur wirken sie auf verschiedene Substanzen verändernd ein.

Tyrosinase fand O. Gross²⁾ im Harn eines an Lebergeschwulst Leidenden.

Siehe: S. G. Hedin, Zeitschr. physiol. Chem. 1921. 112. 252. Über proteolytische Enzyme im normalen und pathologischen Harn. — Lotte Wolpe, Berl. klin. Wochenschr. 1921. 58. 110. Über Fermentausscheidung und Hypophysenwirkung bei Diabetes insipidus; es wurde zweimal Trypsin durch das Anreicherungsverfahren gewonnen.

42. Ehrlichsche³⁾ Diazoreaktion.

Aromatische Diazoverbindungen geben mit verschiedenen im Harn vorhandenen Substanzen schöne Farbenreaktionen, es bilden sich Farbstoffe; die Reaktion beruht darauf, daß gewisse im Harn (pathologischem?) vor-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1912. 76. 489.

²⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1919. 45. 488.

³⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1882. 5. 285; Deutsch. med. Wochenschr. 1883. 9. 549; 1884. 10. 419.