

Anwesenheit von Allantoin entsteht ein weißer glitzernder, oder flockiger Niederschlag. Der gesammelte gewaschene Niederschlag enthält nach dem Glühen 40,75% Ag.

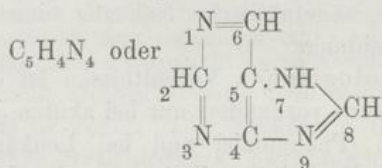
2. Mit einigen Kriställchen stellt man die Schiff'sche Reaktion an (S. 121).
3. Salpetersaures Quecksilberoxyd bewirkt eine Fällung.

20. Purinkörper.

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 nun 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, Nukleinbasen bekannt waren, die man nun aber zweckmäßig als Purinbasen bezeichnen wird.

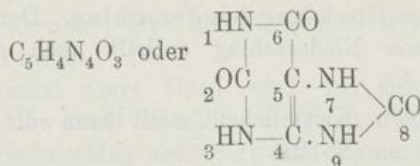
Die Muttersubstanz, das Purin



ist eine neungliedrige Kohlenstickstoff-Wasserstoffverbindung, 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 Agentien; bemerkenswert ist die Unlöslichkeit seines Zinksalzes.

¹⁾ Berl. Ber. 1899. 32. 435–504.

A. Die Harnsäure.



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

Die Harnsäure ist nach dem Harnstoff der wichtigste stickstoffhaltige, regelmäßige Bestandteil des Harnes, der sich auch in verschiedenen anderen Organen (Lunge, Milz, Leber Blut u. s. w.) vorfindet. Im Harne der Vögel, Reptilien nimmt die Harnsäure diejenige Stelle ein, wie der Harnstoff im Harne der Säugetiere; sie ist hier das Endprodukt des Stoffwechsels.

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt von der Menge der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen verläuft die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchschnitt 1:45; nach Salkowski ist 1:40 die Grenze des Normalen. Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden nur bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnukleins 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 Harne bei Gichtleidenden für die Diagnose nicht zu verwerten ist, da die gefundenen Mengen der hier ausgeschiedenen Harnsäure gar keine Anhaltspunkte geben. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natron) wird eine Ver-

Zur Bestimmung der Harnsäure

hatte im vorigen Jahre (s. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 65) Pizzorno ein Verfahren angegeben, das auf Oxydation der Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff mittels Jod beruhte. 150 ccm Harn werden behufs Lösung der Harnsäure und Urate erwärmt, erkalten gelassen und mit Tierkohle geschüttelt, worauf 100 ccm des Filtrats mit 50 ccm $\frac{1}{20}$ n.-Jodlösung versetzt werden und der Überschuß mit Thiosulfat zurücktitriert wird. Bezeichnet man das Volumen der angewandten Hyposulfatlösung mit n, so drückt 50—n die Zahl der zur Oxydation der Harnsäure verbrauchten Kubikzentimeter Jodlösung aus. Diese ergibt, mit 0,042 multipliziert, die Menge der in 1 l Harn enthaltenen Harnsäure.

mehr
scheid
Medik
den r
nicht,
es sch
Beder
säurel
suche

In Nr. 2 (1912) des Rép. de Pharm. wird dieses Verfahren durch H. Caron einer Kritik unterzogen. Bei der Nachprüfung bedient der Verfasser sich einer kleinen Modifikation, indem er zuerst 50 ccm Thiosulfatlösung und dann bei Gegenwart von Stärke allmählich die Jodlösung hinzugibt, um die Endreaktion auf solche Weise zweckmäßiger durch Färbung, als durch Entfärbung festzustellen. Das wesentliche seiner Prüfung aber besteht in dem Befunde, daß die Tierkohle dem Harn eine erhebliche Menge oxydabler Stoffe, besonders aber Harnsäure entzieht, die sowohl von der Quantität der angewandten Tierkohle wie von der Dauer der Einwirkung abhängig ist. Außerdem ist auch die Dauer der Einwirkung des Jods von großem Einfluß. Bei einem und demselben Harn erhielt man Harnsäuremengen von 1,008 bis 0,2352 g.

Nach allem empfiehlt Caron, die Harnsäure vor ihrer Bestimmung nach dem Pizzorno'schen Verfahren in möglichst reinem Zustande zu isolieren, indem man sie beispielsweise nach den Angaben von Ronchèse (s. Pharm. Ztg. 1906, Nr. 29) als Ammoniumurat fällt.

andere Vorgänge (saure Gärung) diese Abscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß eben über diese Vorgänge noch zu wenig. Die Grundform 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 findet sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 27); s. auch Sedimente.

Die Harnsäure ist außerordentlich schwer löslich in Wasser, nach den einwandfreien Versuchen von W. His und Th. Paul¹⁾ bei 18° im Verhältnis 1:39480. Als zweibasische

säureaus-
schiebener
lei. Nach
ebildung
u werden,
e größere
rte Harn-
weben zu

der beim
kowski-

es Pulver,
end; aus
mit Säuren
gefärbten
en Säure
g in den
er sauren
alien, in-
übergeht
des harn-
det; daß

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

Zur Bestimmung der Harnsäure hatte im vorigen Jahre (s. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 65) Pizzorno ein Verfahren angegeben, das auf Oxydation der Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff mittels Jod beruhte. 150 ccm Harn werden behufs Lösung der Harnsäure und Urate erwärmt, erkalten gelassen und mit Tierkohle geschüttelt, worauf 100 ccm des Filtrats mit 50 ccm $\frac{1}{20}$ n.-Jodlösung versetzt werden und der Überschuß mit Thiosulfat zurücktitriert wird. Bezeichnet man das Volumen der angewandten Hyposulfitlösung mit n, so drückt 50—n die Zahl der zur Oxydation der Harnsäure verbrauchten Kubikzentimeter Jodlösung aus. Diese ergibt, mit 0,042 multipliziert, die Menge der in 1 l Harn enthaltenen Harnsäure.

In Nr. 2 (1912) des Rép. de Pharm. wird dieses Verfahren durch H. Caron einer Kritik unterzogen. Bei der Nachprüfung bedient der Verfasser sich einer kleinen Modifikation, indem er zuerst 50 ccm Thiosulfatlösung und dann bei Gegenwart von Stärke allmählich die Jodlösung hinzugibt, um die Endreaktion auf solche Weise zweckmäßiger durch Färbung, als durch Entfärbung festzustellen. Das wesentliche seiner Prüfung aber besteht in dem Befunde, daß die Tierkohle dem Harn eine erhebliche Menge oxydabler Stoffe, besonders aber Harnsäure entzieht, die sowohl von der Quantität der angewandten Tierkohle wie von der Dauer der Einwirkung abhängig ist. Außerdem ist auch die Dauer der Einwirkung des Jods von großem Einfluß. Bei einem und demselben Harn erhielt man Harnsäuremengen von 1,008 bis 0,2352 g.

Nach allem empfiehlt Caron, die Harnsäure vor ihrer Bestimmung nach dem Pizzornoschen Verfahren in möglichst reinem Zustande zu isolieren, indem man sie beispielsweise nach den Angaben von Ronchèse (s. Pharm. Ztg. 1906, Nr. 29) als Ammoniumurat fällt.

nach dieser Zeit weder Blätterbildung, noch Wandbeslag, noch Bodensatz zeigen. müssen leicht aus der Feder fließen und dürfen selbst unmittelbar nach dem Trocknen nicht klebrig sein. Blauholz- und Farbstoffschreibtin unterliegen nicht der amtlichen Prüfung.

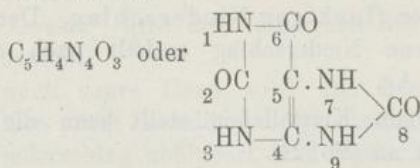
Pharmazeutischer Fragekasten.

(Alle eingehenden Fragen werden entweder an die Stelle oder im Briefwechsel erledigt, und zwar die Mittwoch früh eingehenden im Fragekasten der laufenden Woche. Eine schriftliche Beantwortung kann in der Regel nicht erfolgen)

Nr. 974. *Blumen konservieren.* Bitte Mitteilung eines Verfahrens, nach welchem Blumen in ihrer natürlichen Beschaffenheit halten werden können.

A n t w o r t. Zum Konservieren frischer Blumen wird u. a. folgendes Verfahren als brauchbar empfohlen: Die Blumen werden aufrecht in ein geräumiges Gefäß gestellt und vorsichtig mit feinem trockenem Sande übergossen. Nach 8—10 Tagen wird der Sand vorsichtig ausgegossen, bei sehr saftigen Blumen event. erneuert. Die Blumen behalten vollständig Farbe und Form. Ein anderes Verfahren beruht nach W i m m e r (vergl. Pharm. Z. 1911, Nr. 38) auf der Imprägnierung der Pflanzenteile mit einer gesättigten Naphthalinlösung, der man, um ihr die alkalische Reaktion gegenüber violetten und roten Farbstoffen zu nehmen, 1—2 Tropfen einer konzentrierten Lösung von Salicylsäure in absolutem Alkohol auf 100 g zusetzt. Meist genügt einfaches Eintauchen der Pflanze. Zartere Pflanzen benetzt man mit einer Tropfflasche. Fleischige Pflanzen bedürfen natürlich einer größeren Menge Lösung, ehe sie mit Naphthalinkristallen genügend gedeckt

A. Die Harnsäure.



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

Die Harnsäure ist nach dem Harnstoff der wichtigste stickstoffhaltige, regelmäßige Bestandteil des Harnes, der sich auch in verschiedenen anderen Organen (Lunge, Milz, Leber Blut u. s. w.) vorfindet. Im Harne der Vögel, Reptilien nimmt die Harnsäure diejenige Stelle ein, wie der Harnstoff im Harne der Säugetiere; sie ist hier das Endprodukt des Stoffwechsels.

Im normalen Zustande werden von einem gesunden Menschen innerhalb 24 Stunden ungefähr 0,4—1,4, meist 0,8 g abgeschieden; doch ist wie bei dem Harnstoff der Gehalt von der Menge der zugeführten stickstoffhaltigen Nahrung abhängig. Bei rationeller Ernährung unter normalen Verhältnissen verläuft die Harnsäureausscheidung ziemlich parallel mit der des Harnstoffes; das Verhältnis der Harnsäure zum Harnstoff ist im Durchschnitt 1:45; nach Salkowski ist 1:40 die Grenze des Normalen. Reichliche Fleischnahrung bewirkt eine vermehrte, vegetabilische Nahrung eine verminderte Harnsäureausscheidung.

Unter pathologischen Verhältnissen ist eine Vermehrung der Harnsäure vorhanden nur bei akuten, kritisch endenden Krankheiten (Pneumonie) und bei Leukämie, was sich leicht durch den Zerfall der Zellen von Blutkörperchen und des Kernnukleins 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 Harne bei Gichtleidenden für die Diagnose nicht zu verwerten ist, da die gefundenen Mengen der hier ausgeschiedenen Harnsäure gar keine Anhaltspunkte geben. Auch bei Einwirkung verschiedener Arzneimittel (salicylsaures Natron) wird eine Ver-

mehring beobachtet. Vermindert wird die Harnsäureausscheidung bei Diabetes mellitus, nach Genuß verschiedener Medikamente, wie Chinin, Koffein, Antipyrin, Eisen, Blei. Nach den neuen Beobachtungen scheint die Harnsäurebildung nicht, wie angenommen, durch die Milz betätigt zu werden, es scheint vielmehr der Leber für diese Bildung eine größere Bedeutung zuzukommen; jedenfalls ist aber vermehrte Harnsäurebildung in dem Zerfall von nukleinhaltigen Geweben zu suchen.

Darstellung.

Man gewinnt die Harnsäure am besten nach der beim quantitativen Nachweise angegebenen Methode von Salkowski-Ludwig.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die reine Harnsäure bildet ein weißes, leichtes Pulver, aus rhombischen, durchsichtigen Täfelchen bestehend; aus saurem Harn, ebenso beim Stehenlassen von Harn mit Säuren kristallisiert sie in den verschiedensten, fast stets gelbgefärbten Formen aus (Fig. 27). 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 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 (saure Gährung) diese Abscheidung auch veranlassen, ist nicht ausgeschlossen; man weiß eben über diese Vorgänge noch zu wenig. Die Grundform 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 findet sich auch die Tonnenform, viergliedrige Sterne, die Kamm- und die Hantelform (Fig. 27); s. auch Sedimente.

Die Harnsäure ist außerordentlich schwer löslich in Wasser, nach den einwandfreien Versuchen von W. His und Th. Paul¹⁾ bei 18° im Verhältnis 1:39480. Als zweibasische

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

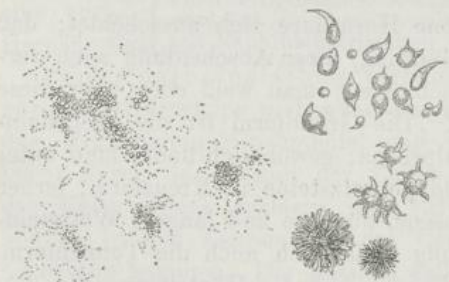
Säure bildet sie neutrale und saure Salze; erstere sind in Wasser leicht, letztere besonders in der Kälte schwer löslich. Die Salze der alkalischen Erden und der meisten Schwer-



Fig. 27. Harnsäure in verschiedenen Formen (250—300fache Vergr.).

Glycerin und in Salzlösungen (Borax, kohlensaure, phosphorsaure und essigsaure Alkalien, Lithiumsalze, Gegenwart von Harnstoff).

Erhitzt zersetzt sich die Harnsäure unter Bildung von



Harnsaures Natron
(ca. 200fache Vergr.).

Harnsaures Ammon
(ca. 350fache Vergr.).

Fig. 28.

Lösung wird aus dem gleichen Grunde reduziert (s. Nachweis).

Aus saurem Harn sondern sich beim Stehen gerne saure harnsaure Sedimente ab; saures harnsaures Kali oder

metalle sind sehr schwer löslich; durch salzsäurehaltige Phosphorwolframsäure, auch konzentrierte alkoholische Pikrinsäurelösung wird die Harnsäure vollkommen gefällt. Im normalen Harn ist die Harnsäure stets an Basen gebunden (Natrium, Ammonium) in Form der beiden Salze (neutrale u. saure). Unlöslich ist die Harnsäure ferner in kaltem und heißem Alkohol, auch in Äther; reichlicher löst sie sich in

Harnstoff, Cyanursäure, kohlensaurem Ammon und Blausäure; mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure; in neutraler oder alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat behandelt wird die Harnsäure in Kohlensäure und Allantoin übergeführt; Fehlingsche

Nat
tion
die
ersch
mal
dem
chen

löse
Erk
im
kug
kom
Aus
eine

cha

sein
als

Natron finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch das Uroerythrin noch ziegelrot gefärbt erscheinen (Fieberharn — *sedimentum lateritium*), manch-

Zur Harnsäurebestimmung nach Aufrecht mittels der Zentrifuge (vergl. Pharm. Ztg. dem 1911, Nr. 37) bemerkt Dr. A. Stephan, daß bei dieser Methode nicht berücksichtigt worden ist, daß in manchen Harnen Mucoids-substanzen vorkommen, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein können. Diese Mucoids-substanzen werden durch Ammoniumchlorid gefällt, sie sind in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich und geben die Biuretreaktion. Da diese Substanzen Kaliumpermanganat reduzieren, so ist es bei der Bestimmung der Harnsäure durch Kaliumpermanganat notwendig, sie zu entfernen. Hierzu empfiehlt sich eine Ausfällung mit Ammoniumsulfat in Verbindung mit Uranacetat, und man modifiziert nach dem Verfasser die Aufrechtsche Methode vorteilhaft wie folgt: 25 ccm einer sauren Ammonsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10 prozentige Essigsäure werden in 650 ccm Wasser gelöst) werden mit 100 ccm Harn gemischt, 5 Minuten stehen gelassen und durch ein Faltenfilter filtriert. 25 ccm Filtrat = 20 ccm Harn versetzt man mit 1 ccm Ammoniak 10 p. c., dampft auf etwa $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Volumens ein und verfährt weiter nach den Angaben Aufrechts.

dämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, welche 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 Kali.

2. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn dieselbe nicht im Überschuß vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschuß von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoin oxydiert wird.

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.

den unter
phe Körn-
28).

Sedimente
aber beim
ndet sich
ogefärbter
eses Salz
r (Fig. 28).
nicht auf
n.

und sehr

oder von
nit etwas
st — am
älchen —
meistens
usatz von
mmoniak-

Zur Harnsäurebestimmung nach Aufrecht mittels der Zentrifuge (vergl. Pharm. Ztg. 1911, Nr. 37) bemerkt Dr. A. Stephan, daß bei dieser Methode nicht berücksichtigt worden ist, daß in manchen Harnen Mucoidsubstanzen vorkommen, die auch in ganz klaren Harnen in kolloidaler Lösung vorhanden sein können. Diese Mucoidsubstanzen werden durch Ammoniumchlorid gefällt, sie sind in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich und geben die Biuretreaktion. Da diese Substanzen Kaliumpermanganat reduzieren, so ist es bei der Bestimmung der Harnsäure durch Kaliumpermanganat notwendig, sie zu entfernen. Hierzu empfiehlt sich eine Ausfällung mit Ammoniumsulfat in Verbindung mit Uranacetat, und man modifiziert nach dem Verfasser die Aufrechtsche Methode vorteilhaft wie folgt: 25 ccm einer sauren Ammonsulfat-Uranacetatlösung (500 g Ammonsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10prozentige Essigsäure werden in 650 ccm Wasser gelöst) werden mit 100 ccm Harn gemischt, 5 Minuten stehen gelassen und durch ein Faltenfilter filtriert. 25 ccm Filtrat = 20 ccm Harn versetzt man mit 1 ccm Ammoniak 10 p. c., dampft auf etwa $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Volumens ein und verfährt weiter nach den Angaben Aufrechts.

gegangen
klärt werden. Trübt sich der Harn bei Zusatz der Essigsäure schon in der Kälte (Gehalt an einem gewöhnlich als Nukleoalbumin bezeichneten Körper), so wird er dann ebenfalls filtriert. Ist der zu prüfende Urin alkalisch, so muß der Harn mit der verdünnten Essigsäure auf eben schwachsaure Reaktion gebracht und dann noch mit der angegebenen Essigsäuremenge versetzt werden. Zur Sicherung empfiehlt es sich, nach dem Kochen noch einige weitere Tropfen Essigsäure zuzusetzen, um event. ausgefällte Phosphate zu lösen. Bereits ausgefälltes Eiweiß, auch wenn es sich nur um Spuren handelt, wird durch einen geringen Mehrzusatz von Essigsäure dagegen nicht wieder gelöst, falls nicht von neuem gekocht wird.“

Es handelt sich bei der vorstehenden Methode im wesentlichen nur um eine Kochprobe mit vorherigem Säurezusatz, die von anderer Seite wieder als wenig empfehlenswert hingestellt wird (vergl. Pharm. Ztg. 1909, Nr. 98), die aber nach den Versuchen des Verfassers als eine sehr empfindliche und zuverlässige gelten kann. (M. med. Wschr. 1911, Nr. 21.)

Eine quantitative Bestimmung gelöster Eiweißstoffe im Mageninhalt, die eine Orientierung der Verdauungsarbeit ermöglicht, wird von Dr. W. Wolff und Dr. P. Junghans beschrieben. Die Methode, die zwar keine absoluten

Natron finden sich in Zuständen, die eine starke Konzentration des Harnes bedingen (besonders bei Fieber), in Sedimenten, die gewöhnlich durch das Uroerythrin noch ziegelrot 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. 28).

Die aus den harnsauren Salzen bestehenden Sedimente lösen sich beim schwachen Erwärmen leicht, fallen aber beim Erkalten wieder aus. Das harnsaure Ammon findet sich im Sediment von alkalischem Harn in Form gelbgefärbter kugelig, auch mit Stacheln besetzter Massen; dieses Salz kommt in Phosphatsteinen und Blasenkonkrementen vor (Fig. 28). 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 Porzellanschälchen — auf dem Wasserbade eintrocknen, so bleibt meistens schon ein rotgefärbter Rückstand, der auf Zusatz von wenig Ammoniak — man bläst am besten Ammoniakdämpfe darüber — eine prachtvolle purpurrote Farbe annimmt, welche 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 Kali.
2. Harnsäure enthaltende Flüssigkeiten scheiden aus Fehlingscher Lösung, wenn dieselbe nicht im Überschuß vorhanden ist, weißes harnsaures Kupferoxydul, bei einem Überschuß von der Fehlingschen Lösung aber rotes Kupferoxydul aus, wobei die Harnsäure zum Teil zu Allantoïn oxydiert wird.

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 kohlen saure Silber mit einer Lösung von Harnsäure oder harnsaurem Natron, so entsteht ein schwarzer Fleck) ist mit Vorsicht aufzunehmen, da diese Reaktion durch eine Reihe anderer Stoffe ebenfalls hervorgerufen werden kann.

3. Prüfung unter dem Mikroskope (Fig. 27 u. Sedimente).

Die quantitative Bestimmung der Harnsäure.

Diese Bestimmung ist wohl nur von Wert, wenn sie in einem Teile der sorgfältig gesammelten 24stündigen Harnmenge vorgenommen wird, falls nicht von Seite des Arztes anders gewünscht wird. Etwaige 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 von diesem befreit werden (s. S. 27), ebenso kann auch diabetischer Harn keine Verwendung finden, da sich die Harnsäure hier nur unvollkommen abscheidet.

Von sehr verdünntem Harn verwendet man 400 ccm und dampft denselben 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 u. s. w. 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 Kristalle auf einem bei 100° getrockneten und gewogenen Filter oder zweckmäßiger im Gooch'schen Tiegel gesammelt; nach 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.

¹⁾ Annal. Chem. Pharm. 130. 189.

beruht
mit Pe

schädel
lichen
unten
Goed
Marke
ammon
gekühl
selbe i
laufge
gelben
(filtrie
sulfat
Flüssig
hinzug
Um d
dieses
niumu
karbon
Röhre
säure
perma
zentim

mit so
Eiweiß
ursprü
gemes

und i
der F
einige
und d
Wasse
röhre
aufge
Der a
von l
und v

lösun
einer
setzt
löste

Harn
filtrier
wird i

Ueber eine einfache und schnelle Methode zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure im Harn, im Blute und in anderen serösen Flüssigkeiten.

Von Dr. Aufrecht - Berlin.

Das vom Verfasser zur Harnsäurebestimmung empfohlene Verfahren beruht auf der Abscheidung der Säure als Ammoniumurat und Titration mit Permanganat. Die Ausführung geschieht in folgender Weise:

25 ccm des zu untersuchenden Harns werden in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbade bis auf etwa ein Fünftel seines ursprünglichen Volumens eingedampft, der Rückstand wird in ein zylindrisches, unten abgerundetes, mit zwei Marken versehenes Zentrifugenröhrchen von Goedecke & Co. - Berlin gefüllt und mit destilliertem Wasser bis zur Marke *U* nachgespült, dann wird eine gesättigte Lösung von Chlorammonium (35 : 100) bis zur Marke *R* hinzugefügt. Nachdem der gut abgekühlte Inhalt des Röhrchens durchgemischt worden ist, bringt man dasselbe in die Metallhülse einer Zentrifuge und zentrifugiert je nach der Umlaufgeschwindigkeit der Zentrifuge 3—5 Minuten. Die über dem bräunlichgelben amorphen Bodensatz befindliche klare Flüssigkeit wird abgegossen (filtrieren ist dabei nicht erforderlich), der Bodensatz mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals scharf zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird nochmals abgegossen und neue Ammoniumsulfatlösung hinzugefügt. Hierauf wird wieder einige Minuten scharf zentrifugiert. Um den Niederschlag völlig chlorfrei zu bekommen, empfiehlt es sich, dieses Waschen noch einmal zu wiederholen. Nunmehr wird der aus Ammoniumurat bestehende Bodensatz in etwa 10 ccm einer 1% igen Natriumkarbonatlösung gelöst, die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen des Röhrchens in ein Becherglas gebracht, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und rasch mit $\frac{n}{100}$ Kaliumpermanganatlösung bis zur Rotfärbung titriert. Jedes verbrauchte Kubikzentimeter $\frac{n}{100}$ Permanganatlösung entspricht 0,74 mg Harnsäure.

Enthält der Harn gerinnbares Eiweiß, so wird derselbe vorher mit so viel Essigsäure angesäuert, als zur vollständigen Abscheidung des Eiweißes beim Kochen erforderlich ist. Von dem filtrierten und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllten Harn werden alsdann 25 ccm abgemessen und in der angegebenen Weise weiter behandelt.

Zur Bestimmung der Harnsäure im Blute, in der Lymphe und in Transsudaten verfährt man in ähnlicher Weise: 10 ccm der Flüssigkeit werden mit der 10 fachen Menge Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt und die abgeschiedenen Eiweißmassen abfiltriert. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volumen eingedampft, in das Zentrifugenröhrchen gefüllt, mit konzentrierter Chlorammoniumlösung bis zur Marke *R* aufgefüllt und nach dem vollständigen Erkalten der Mischung zentrifugiert. Der am Boden des Röhrchens befindliche braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Ammonium wird in heißem alkalischen Wasser gelöst und wie oben angegeben weiter behandelt.

(Berl. klin. Wochenschr. 1911, S. 627.)

Man versetzt eine Mischung von 20 ccm der Silberlösung und 20 ccm Magnesiamischung, die man vorher in einem Becherglase gemischt und mit soviel 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% ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man

¹⁾ Wien. med. Jahrb. 1884. 597.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

Ueber eine einfache und schnelle Methode zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure im Harn, im Blute und in anderen serösen Flüssigkeiten.

Von Dr. Aufrecht - Berlin.

Das vom Verfasser zur Harnsäurebestimmung empfohlene Verfahren beruht auf der Abscheidung der Säure als Ammoniumurat und Titration mit Permanganat. Die Ausführung geschieht in folgender Weise:

25 ccm des zu untersuchenden Harns werden in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbade bis auf etwa ein Fünftel seines ursprünglichen Volumens eingedampft, der Rückstand wird in ein zylindrisches, unten abgerundetes, mit zwei Marken versehenes Zentrifugenröhrchen von Goedecke & Co. - Berlin gefüllt und mit destilliertem Wasser bis zur Marke U nachgespült, dann wird eine gesättigte Lösung von Chlorammonium (35 : 100) bis zur Marke R hinzugefügt. Nachdem der gut abgekühlte Inhalt des Röhrchens durchgemischt worden ist, bringt man dasselbe in die Metallhülse einer Zentrifuge und zentrifugiert je nach der Umlaufgeschwindigkeit der Zentrifuge 3—5 Minuten. Die über dem bräunlichen amorphon Bodensatz befindliche klare Flüssigkeit wird abgossen (filtrieren ist dabei nicht erforderlich), der Bodensatz mit 5 ccm Ammoniumsulfatlösung übergossen und nochmals scharf zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird nochmals abgossen und neue Ammoniumsulfatlösung hinzugefügt. Hierauf wird wieder einige Minuten scharf zentrifugiert. Um den Niederschlag völlig chlorfrei zu bekommen, empfiehlt es sich, dieses Waschen noch einmal zu wiederholen. Nunmehr wird der aus Ammoniumurat bestehende Bodensatz in etwa 10 ccm einer 1% igen Natriumkarbonatlösung gelöst, die Lösung unter mehrmaligem Nachspülen des Röhrchens in ein Becherglas gebracht, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert, zum Sieden erhitzt und rasch mit $\frac{n}{100}$ Kaliumpermanganatlösung bis zur Rotfärbung titriert. Jedes verbrauchte Kubikzentimeter $\frac{n}{100}$ Permanganatlösung entspricht 0,74 mg Harnsäure.

Enthält der Harn gerinnbares Eiweiß, so wird derselbe vorher mit so viel Essigsäure angesäuert, als zur vollständigen Abscheidung des Eiweißes beim Kochen erforderlich ist. Von dem filtrierten und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllten Harn werden alsdann 25 ccm abgemessen und in der angegebenen Weise weiter behandelt.

Zur Bestimmung der Harnsäure im Blute, in der Lymphe und in Transsudaten verfährt man in ähnlicher Weise: 10 ccm der Flüssigkeit werden mit der 10 fachen Menge Wasser verdünnt, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt und die abgeschiedenen Eiweißmassen abfiltriert. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade bis auf ein kleines Volumen eingedampft, in das Zentrifugenröhrchen gefüllt, mit konzentrierter Chlorammoniumlösung bis zur Marke R aufgefüllt und nach dem vollständigen Erkalten der Mischung zentrifugiert. Der am Boden des Röhrchens befindliche braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Ammonium wird in heißem alkalischen Wasser gelöst und wie oben angegeben weiter behandelt.

(Berl. klin. Wochenschr. 1911, S. 627.)

verdünnt man mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm Phosphorsäure und nach dem Umschwenken 1 g Jodkalium hinzu und titriert sogleich mit $\frac{1}{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung. Zur Bindung des ausgeschiedenen Jods dürfen nicht weniger als 15,8 und nicht mehr als 16,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung verbraucht werden, was einem Gehalte von 4,01—4,11% Jod entspricht.

Sirupus Ferri oxydati ist nicht verändert.

Wie schon erwähnt, wird *Sirupus Ipecacuanhae* durch Mischung von 1 Teil Brechwurzel tinktur mit 9 Teilen Zuckersirup bereitet.

Sirupus Liquiritiae, *Sirupus Mannae*, *Sirupus Menthae piperitae* und *Sirupus Rhamni catharticae* werden wie bisher bereitet, nur werden statt grob zerschnittenen Süßholzes und mittelfein zerschnittener Pfefferminzblätter jetzt grob gepulverte Drogen verwandt.

Sirupus Rhei wird nunmehr aus mittelfein zerschnittenem Rhabarber und nur mit Kaliumkarbonat (früher noch Natriumborat) bereitet.

Sirupus Rubi Idaei ist wie *Sirupus Cerasorum* auf Salicylsäure, Stärkesirup und Teerfarbstoffe zu prüfen.

Sirupus Senegae und *Sirupus Sennae* sind unverändert übernommen, statt mittelfein zerschnittener Senegawurzel ist nur grobes Pulver zu verwenden.

Sirupus simplex ist nunmehr auf Stärkesirup zu prüfen.

Solutio Natrii chlorati physiologica ist neu aufgenommen. Durch die Forderung, daß physiologische Kochsalzlösung nur keimfrei abgegeben werden darf, ergibt sich die Notwendigkeit, entweder die Lösung stets frisch zu bereiten und zu sterilisieren oder aber für eine in jeder Beziehung einwandfreie sterile Aufbewahrung Sorge zu tragen. Das Arzneibuch hätte nun meines Erachtens angeben sollen, in welcher Weise die Kochsalzlösung aufbewahrt werden soll, um der obigen Forderung gerecht zu werden, denn diese Lösung wird nicht selten eilig verlangt, so daß ein Vorrätighalten notwendig ist. Leider hat das Arzneibuch auch jetzt wieder von einem besonderen Abschnitt über Sterilisation abgesehen, in vier dürftigen Zeilen wird in der Vorrede von Sterilisation gesprochen! Um so mehr hätte doch dieser Abschnitt über physiologische Kochsalzlösung das Notwendigste über Aufbewahrung usw. enthalten sollen.

(Fortsetzung folgt.)

verdünnt man mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm Phosphorsäure und nach dem Umschwenken 1 g Jodkalium hinzu und titriert sogleich mit $\frac{1}{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung. Zur Bindung des ausgeschiedenen Jods dürfen nicht weniger als 15,8 und nicht mehr als 16,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Natrium-

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 gelösten bleibenden Harnsäure je nach der Beschaffenheit (Konzentration) des Harnes wechselt.

2. Methode von Salkowski-Ludwig¹⁾ mit den von O. Folin und Ph. A. Shaffer²⁾ angegebenen Modifikationen.

Prinzip.

Es wird die Harnsäure als Silbermagnesiumsalz ausgefällt und die aus der Silberfällung freigemachte Säure entweder gewogen, nach Kjeldahl bestimmt oder titriert.

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

3. Schwefelalkalilösung nach Ludwig.

15 g Ätzkali oder 10 g Ätznatron, welche 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 Modifikationen sind an den betreffenden Stellen angefügt.

Ausführung.

Der bis zum spezifischen Gewicht 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 soviel 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% ammoniakalischen Silberlösung versetzt, wobei man

¹⁾ Wien. med. Jahrb. 1884. 597.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

sich nach dem Absetzen des Niederschlages überzeugt, daß die Flüssigkeit überschüssiges Silber enthält. Folin und Shaffer fanden, daß das wie eingangs 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 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 Filtrerrückstand mit Hilfe der Spritzflasche in das gleiche Becherglas zurückgebracht, wobei man das Filter nicht verletzt. Nun säuert man nach Salkowski mit Salzsäure an und leitet in die ungefähr 200 bis 250 ccm betragende Flüssigkeit mit dem suspendierten Niederschlag der harnsauren Silbermagnesia bis zur Sättigung Schwefelwasserstoff ein und zwar, nachdem man vorher (nach Shaffer und Folin) 5—10 ccm einer 1% 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, zum Sieden erhitzt und diese Lösung durch das bereits benutzte Filter in das Becherglas mit dem Niederschlag filtriert. Man wäscht mit heißem Wasser nach, erwärmt dann 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 Krystallisier- 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 (ca. 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, indem man das Filtrat benutzt, um die letzten Teile der ausgeschiedenen Harnsäure aufs Filter zu bringen. Man wäscht schließlich mit kleinen Mengen Wassers nach, bis das Filtrat

keine Chlorreaktion mehr gibt und mißt die Menge des Filtrates und des Waschwassers, die zusammen ungefähr 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 Filtrückstand nach dem Waschen mit Alkohol einige Male mit frisch rektifiziertem Schwefelkohlenstoff und dann 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. 160).

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 waschen, sondern kann diese direkt in das Becherglas spülen, mit Hilfe von ein wenig Natronlauge (man verwende kein durch Alkohol gereinigtes NaOH) lösen und nach Schwefelsäurezusatz mit Permanganat titrieren (S. 159).

Beurteilung.

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

3. Bestimmung nach Jolles.²⁾

Prinzip.

Die isolierte Harnsäure wird durch Behandlung mit Schwefelsäure und Permanganat in solche Verbindungen quantitativ zerlegt, die ihren Stickstoff durch unterbromigsaures Natron quantitativ in Gasform abgeben. Aus dem Stickstoffvolumen berechnet man die Harnsäure.

Erforderliche Lösungen.

1. Schwefelsäure 1,40 spez. Gew. (ca. 51 g konz. H_2SO_4 und ca. 49 g destilliertes Wasser).
2. Permanganatlösung. 8 g $KMnO_4$: 1 Liter.
3. Bromlauge. 80 g Ätznatron löst man unter Kühlen in destilliertem Wasser und setzt 25 g Brom hinzu; man füllt mit destilliertem Wasser auf 1 Liter auf.

Ausführung der Bestimmung.

Von eiweiß- und zuckerfreien Harnen bis zu einem spezifischen Gewichte von 1,028 g werden 100 ccm, von konzen-

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

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 29. 222; Chem. Ztg. 1902. 26. 1015; Wien. mediz. Wochenschr. 1903. 41. Nr. 10.

trierteren Harnen 50 ccm entnommen und in einem etwa 500 bis 600 ccm fassenden Becherglase mit ca. 10 g festem Ammoniumacetat versetzt; man rührt mit einem Glasstabe um und fügt soviel konzentriertes Ammoniak tropfenweise zu, bis die Flüssigkeit deutlich nach Ammoniak riecht.¹⁾ In der Regel genügen etwa 3—5 ccm Ammoniak. Nach circa 4stündigem ruhigen Stehen wird durch ein Schleichersches Filter filtriert, der im Becherglase verbleibende Rückstand mit 10%iger Ammoniumkarbonatlösung gewaschen und die Lösung ebenfalls filtriert. Der auf dem Filter befindliche Niederschlag wird hierauf mit der Ammoniumkarbonatlösung in Portionen von etwa 10 ccm so oft ausgewaschen, bis das Waschwasserfiltrat keine Chlorreaktion mehr zeigt, was in der Regel nach etwa 9—10maligem Auswaschen erreicht wird. Hierauf wird das Filter samt dem Niederschlage in noch feuchtem Zustande auf ein entsprechend großes Uhrglas ausgebreitet und der Niederschlag mit heißem destilliertem Wasser quantitativ in das zur Fällung benutzte Becherglas abgespritzt. Man bringt hierauf in das Becherglas 0,1—0,2 g chemisch reine Magnesia und kocht den Inhalt des Becherglases solange, bis angefeuchtetes rotes Lackmuspapier von den entweichenden Dämpfen nicht mehr gebläut wird, was nach circa $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ stündigem Kochen erreicht ist. Hierauf wird der Inhalt des Becherglases unter Abspritzen des Glasrandes auf ungefähr 250 bis 300 ccm gebracht, 10 ccm einer Schwefelsäurelösung vom spezifischen Gewichte 1,40 hinzugegeben, zum Kochen erhitzt und dann aus einer Bürette von der Permanganatlösung — und zwar nur je 1 ccm auf einmal — zugesetzt. Die ersten Permanganatzusätze werden von der Harnsäure sofort reduziert, etwa bis zu dem Momente, wo der Endpunkt der Folinschen Titration erreicht ist. Dann folgt eine Periode, wo die jeweilig zugesetzten Kubikzentimeter Permanganat erst nach mehreren Minuten Kochdauer verschwinden. Gegen das Ende der Oxydation — und dies ist gewissermaßen der dritte Abschnitt — tritt Abscheidung von Mangansuperoxyd ein, welches aber bei weiterem Erhitzen in Lösung geht. Erst wenn die durch den letzten Permanganatzusatz erfolgte Abscheidung von

¹⁾ Die Fällung kann auch mit 10 g Ammoniumsulfat erfolgen, in welchem Falle der Ammoniakzusatz überflüssig ist.

Mangansuperoxyd bei ca. 20—25 Minuten langem Kochen nicht mehr verschwindet, dann ist die Oxydation als beendet anzusehen. Sobald der Inhalt des Becherglases ca. 50 ccm beträgt, verdünnt man neuerdings mit destilliertem Wasser auf etwa 200 ccm, erhitzt zum Kochen und setzt die Oxydation in der oben beschriebenen Weise bis zum Endpunkte fort. Nach beendigter Oxydation wird der Inhalt des Becherglases auf ca. 25 ccm eingedampft, die geringe Braunsteinabscheidung mit etwas Oxalsäure ($\frac{1}{10}$ Säure) entfernt, die Wände des Becherglases mit ca. 25—30 ccm destilliertem Wasser abgespült und hierauf das Becherglas — am besten unter dem Strahle der Wasserleitung — gut gekühlt. Nunmehr bringt man ein Stückchen Lackmuspapier in das Becherglas und setzt von einer Lauge von 32° Bé. (= 25,8%) je 1 ccm unter Umrühren auf einmal zu, wobei nach jedesmaligem Laugenzusatze das Becherglas gekühlt wird. Wenn die Wände des Becherglases von dem Strahle der Wasserleitung umspült werden, erlangt die Flüssigkeit nach jedesmaligem Laugenzusatze in wenigen Minuten die erforderliche Normaltemperatur. Sobald das Lackmuspapier eben alkalische Reaktion anzeigt, ist die Neutralisation beendet. Man bringt hierauf den Inhalt des Becherglases, dessen Volumen in der Regel ca. 60 ccm beträgt, quantitativ in das ca. 450—500 ccm fassende Schüttelgefäß des Azotometers und spült das Becherglas 2—3mal mit je 8—10 ccm destilliertem Wasser nach, so daß die Gesamtflüssigkeit in dem Schüttelgefäße etwa 90—100 ccm beträgt. In das zweite kleinere, ca. 60 ccm fassende Gefäß — am besten aus Guttapercha — bringt man 25 ccm der frisch bereiteten Bromlauge und führt hierauf die volumetrische Stickstoffbestimmung sofort nach der Neutralisation in der bereits S. 127 beschriebenen Weise durch.

Die Zahl der abgelesenen Kubikzentimeter Stickstoff wird mit dem Faktor der Tabelle, welcher dem beobachteten Drucke und der Temperatur entspricht, multipliziert; man erhält dann direkt die Milligramme Harnsäure im Liter Harn (S. 158).

Beurteilung.

Die Methode gibt — korrekt ausgeführt —, wie Makowka, Richter, Wogrinz und ich bestätigen konnten, sehr gute und zuverlässige Resultate und hat den großen Vorzug der Einfachheit, da Wägungen und eingestellte Lösungen entbehrlich gemacht sind; den Apparat kann man sich auch selbst zusammenstellen; man muß aber die Größenverhältnisse des Zersetzungsgefäßes und des kleinen Gefäßes berücksichtigen. Bei einem Harnsäuregehalt von 0,03—0,08 g erhält man die exaktesten Ergebnisse.

Tabelle zur Harnsäurebestimmung.

1 ccm Stickstoff entspricht Grammen Harnsäure im Liter.

Bei Entnahme von 50 oder 200 ccm sind die Zahlen mit 2 resp. $\frac{1}{2}$ zu multiplizieren.

Barometer- stand	10°	12°	14°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	25°
700	0,0330	0,0327	0,0324	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0313	0,0312	0,0310	0,0307
2	0,0331	0,0328	0,0325	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0313	0,0311	0,0308
4	0,0332	0,0329	0,0326	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0314	0,0312	0,0309
6	0,0333	0,0330	0,0327	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0318	0,0316	0,0315	0,0313	0,0310
8	0,0334	0,0331	0,0328	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0314	0,0311
710	0,0335	0,0332	0,0329	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0315	0,0311
12	0,0336	0,0333	0,0330	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0320	0,0319	0,0317	0,0316	0,0312
14	0,0337	0,0334	0,0331	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0321	0,0320	0,0318	0,0317	0,0313
16	0,0338	0,0335	0,0332	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0322	0,0321	0,0319	0,0317	0,0314
18	0,0339	0,0336	0,0333	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0318	0,0315
720	0,0340	0,0337	0,0334	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0319	0,0316
22	0,0341	0,0338	0,0335	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0325	0,0323	0,0322	0,0320	0,0317
24	0,0342	0,0338	0,0335	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0324	0,0323	0,0321	0,0318
26	0,0342	0,0339	0,0336	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0325	0,0324	0,0322	0,0319
28	0,0343	0,0340	0,0337	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0328	0,0326	0,0325	0,0323	0,0320
730	0,0344	0,0341	0,0338	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0329	0,0327	0,0326	0,0324	0,0320
32	0,0345	0,0342	0,0339	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0330	0,0328	0,0326	0,0325	0,0321
34	0,0346	0,0343	0,0340	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0327	0,0326	0,0322
36	0,0347	0,0344	0,0341	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0328	0,0327	0,0323
38	0,0348	0,0345	0,0342	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0332	0,0331	0,0329	0,0328	0,0324
740	0,0349	0,0346	0,0343	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0333	0,0332	0,0330	0,0329	0,0325
42	0,0350	0,0347	0,0344	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0334	0,0333	0,0331	0,0329	0,0326
44	0,0351	0,0348	0,0345	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0330	0,0327
46	0,0352	0,0349	0,0346	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0331	0,0328
48	0,0353	0,0350	0,0347	0,0344	0,0342	0,0340	0,0339	0,0337	0,0335	0,0334	0,0332	0,0329
750	0,0354	0,0351	0,0348	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0336	0,0335	0,0333	0,0330
52	0,0355	0,0352	0,0349	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0337	0,0336	0,0334	0,0331
54	0,0356	0,0353	0,0350	0,0347	0,0345	0,0343	0,0341	0,0340	0,0338	0,0337	0,0335	0,0332
56	0,0357	0,0354	0,0350	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0341	0,0339	0,0338	0,0336	0,0332
58	0,0358	0,0355	0,0351	0,0348	0,0347	0,0345	0,0343	0,0342	0,0340	0,0338	0,0337	0,0333
760	0,0359	0,0356	0,0352	0,0349	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0338	0,0334
62	0,0360	0,0356	0,0353	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0338	0,0335
64	0,0361	0,0357	0,0354	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0344	0,0343	0,0341	0,0339	0,0336
66	0,0362	0,0358	0,0355	0,0352	0,0350	0,0349	0,0347	0,0345	0,0344	0,0342	0,0340	0,0337
68	0,0363	0,0359	0,0356	0,0353	0,0351	0,0350	0,0348	0,0346	0,0345	0,0343	0,0341	0,0338
770	0,0364	0,0360	0,0357	0,0354	0,0352	0,0351	0,0349	0,0347	0,0346	0,0344	0,0342	0,0339

Ähnlich verfährt J. F. Tocher¹⁾; er oxydiert die Harnsäure mit CrO_3 zu Harnstoff und bestimmt diesen mit unterbromigsaurem Natron.

¹⁾ Pharm. Journ. 1902. [4] 15. 161.

4. Titrimetrische Bestimmung nach Hopkins, modifiziert von O. Folin und Ph. A. Shaffer.¹⁾

Prinzip.

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

Allgemeines über die Methode.

Folin und Shaffer haben die Hopkinsche Ammonsulfatmethode 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 Ammonsulfatfällungen zu erhalten; der Grund war der, daß ein in manchen Harnen vorkommender Körper — die Verf. nehmen an, daß es sich um die von K. Mörner erwähnte Mucoidsubstanz handelt, die auch in ganz klaren Harnen in colloidalen Lösung vorhanden sein kann — durch geringe Mengen Ammonsalze gefällt wird und auch Kaliumpermanganat reduziert. Sie haben durch Versuche mit diesem isolierten Körper gefunden, daß er durch Ammonchlorid quantitativ gefällt wird, daß er in Alkalien löslich, in verdünnten Säuren unlöslich ist und die Biuretreaktion gibt; in saurer Lösung wird er durch Ammonsulfat 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 Ammonsulfatmethode gestaltet sich nun in folgender Weise.

Erforderliche Lösungen.

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

Ausführung.

75 ccm dieser Lösung werden mit 300 ccm Harn gemischt und in einem nicht zu weiten Cylinder 5 Minuten stehen gelassen, worauf man durch 2 Faltenfilter filtriert und je 125 ccm vom Filtrate in 2 Bechergläser abmißt. Diesen Filtraten werden nun 5 ccm konzentrierten Ammoniaks zugesetzt und die Lösungen nach Umrühren bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Von dem nun am Boden des Becherglases abgesetzten Ammonurat wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig auf ein Filter (Schleicher u. Schüll Nr. 597) gegossen, zuletzt die Fällung mittels 10% Ammonsulfatlösung 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

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 552.

zuerst aus dem Trichter zu nehmen und zu öffnen, anstatt dasselbe nur mit dem Glasstabe zu durchstoßen. Dem Ammonurat, in annähernd 100 ccm Wasser aufgeschlemmt, wird 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt und die erhaltene Lösung sogleich mit $\frac{1}{20}$ Permanganatlösung (1,6 : 1 Liter) titriert. Gegen das Ende der Titration ist es zweckmäßig, die Kaliumpermanganatlösung in Portionen von je 2 Tropfen hineinfließen zu lassen, bis die erste schwache Rosafärbung durch die ganze Flüssigkeit zu sehen ist.

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

Die Permanganatlösung kontrolliert man mit Oxalsäure. Eine Korrektur von 3 mg Harnsäure pro je 100 ccm des angewendeten Harnes ist wegen Löslichkeit des Ammonurates hinzuzufügen.

Beurteilung.

Die von den Autoren erhaltenen Zahlen stimmen mit den nach Salkowski-Ludwig erhaltenen überein. Ich habe ebenfalls gute Resultate mit dieser Methode erzielt.

Ikterische Harn — überhaupt stark gefärbte Harn — müssen zuerst durch Zusatz von etwas Eiweißlösung und Aufkochen entfärbt werden. Daß man statt zu titrieren den Stickstoff und somit die Harnsäure nach Kjeldahl bestimmen kann, ist selbstverständlich.

5. Bestimmung nach E. Wörner.¹⁾

Prinzip.

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

Ausführung.

150 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Ammonchlorid aufgelöst. Nach $\frac{1}{2}$ bis 1 stündigem Stehen wird der Niederschlag von dem Ammoniumurat abfiltriert, mit 10% Ammonsulfatlösung 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 solange 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. 108).

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

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1900. 29. 70.

Beurteilung.

Größere Mengen Eiweiß sind zu entfernen. Mit Recht bemerkt M. Lewandowsky, daß die Methode dadurch versagen kann, daß das Ammoniumurat nicht ausfällt; die Ursache ist eine übergroße Acidität des Harnes. Man reguliert die Acidität deshalb in der Weise, daß nur schwach saure Reaktion vorhanden ist.

F. Mallet¹⁾ 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 kristallisiertes 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.

Haykraft, Herrmann füllen die Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung in Gegenwart von Magnesiasalz, wie bei 1 angegeben, aus. In der salpetersauren Lösung des Niederschlages bestimmt man das Silber nach der Volhardschen Methode; man titriert dann mit $\frac{1}{50}$ oder $\frac{1}{100}$ Normalrhodanamm., das man mit der Silberlösung von gleicher Stärke genau eingestellt hat.

1 ccm $\frac{1}{50}$ Rhodanamm. = 0,00336 Harnsäure.

Wahl der Methode.

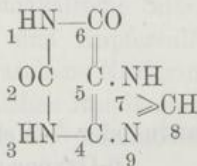
Methode 2 und 3 geben sehr gute Resultate; auch der unter 4 und 5 angeführten Methoden kann man sich bedienen. Wie aus der angegebenen Ausführungsweise zu ersehen ist, erfordert die Methode 2 längeren Zeitaufwand; genaues Arbeiten ist bei allen Methoden unerlässlich. Die Methode 1 hat als älteste Methode mehr historisches Interesse.

B. Purinbasen (Xanthinbasen, Nukleinbasen, Alloxurbasen).

Seitdem experimentell durch die Synthesen nachgewiesen ist, daß die Harnsäure und die Xanthinkörper Abkömmlinge der gleichen Grundform sind und die Xanthinkörper, deren Entstehung und Bildung zum Teil aus den für die gesamten Vorgänge im lebenden Organismus wichtigen Nukleinen erfolgt, als die Vorstufe der Harnsäure gelten, hat man dem Vorkommen dieser Basen im Harn eine größere physiologische Bedeutung beigemessen. Die Xanthinbasen sind in den Nukleinen an die Nukleinsäure gebunden und werden aus diesen durch hydrolytische Spaltung leicht abgeschieden.

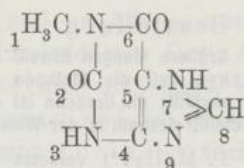
Im Harn kommen vor:

Xanthin oder 2,6-Dioxypurin

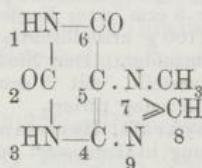


¹⁾ Rep. Pharm. 1899. 55. 100.

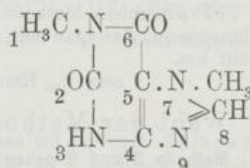
1-Methylxanthin oder 1-Methyldioxy-
purin 2,6



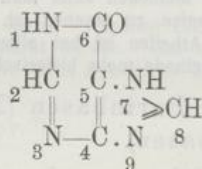
Heteroxanthin oder 7-Methyldioxy-
purin 2,6



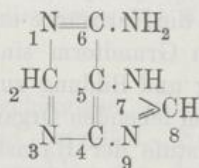
Paraxanthin oder 1,7 Dimethyldioxy-
purin 2,6



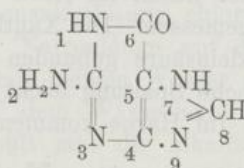
Hypoxanthin oder 6-Oxypurin



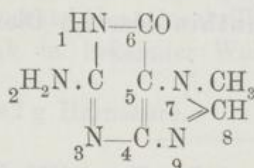
Adenin oder 6-Aminopurin



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.

Was die Herkunft betrifft, so werden Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin aus den Nukleinen gebildet, soweit diese nicht in Harnsäure übergehen, während die methylierten, Heteroxanthin, Paraxanthin, Epiguanin, Methylxanthin aus den Nahrungs- und Genußmitteln stammen; merkwürdig ist, daß im Organismus eine Entmethylierung stattfindet, indem aus dem Koffein 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,
Hypoxanthin 8,50 g,
Adenin 3,54 g,
Epiguanin 3,40 g.

Vermehrt finden sich die Xanthinbasen im Harne Nephritischer und Leukämischer, und zwar kann der Gehalt um das Zehnfache gesteigert werden; bei akuter Leberatrophie tritt ebenfalls Vermehrung ein; bei starker Vermehrung der Xanthinbasen sehen wir gewöhnlich eine Verminderung der Harnsäure und umgekehrt bei starker Harnsäureausscheidung eine Verminderung der Xanthinbasen, 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 Silber-

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

²⁾ Ebenda. 1898/99. 26. 351.

verbindungen 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-Natriumbisulfittfällung gleichfalls im Rundkolben mit Wasser erwärmt, durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, dann mit Salzsäure bis zur stark 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 niederer 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 % Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Dieselbe 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 1-Methylxanthin (Xanthinfraktion), in die wässrige Lösung gehen über Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin.

a) Xanthinfraktion: Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Gemenge der drei Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3 % 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, welcher mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war, zerstört; innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dasselbe 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 Kristallpulver 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 1-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate von Xanthinnitrat durch Übersättigen mit Ammoniak und 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 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% 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 überschüssiger 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 konz. Sal-

petersäure) gelöst; beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Aus dem Filtrate von diesen Körpern werden die noch in demselben vorhandenen Basen und zwar geringe Mengen Hypoxanthin, der Rest von Heteroxanthin und l-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 l-Methylxanthin, welche durch 3,3 % 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, isoliert und der Rückstand ihrer wässrigen Lösung aus wenig verdünnter Salpetersäure (Konzentration wie angegeben) umkristallisiert. Salpetersaures Hypoxanthin scheidet sich aus, das Paraxanthin kann aus der Mutterlauge als Natriumsalz oder als freie Base gewonnen werden.

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

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

Allgemeine Eigenschaften der Purinbasen.

Sie werden amorph, meist aus unreinen Lösungen, doch auch in recht charakteristischen Kristallformen erhalten. In Wasser sind sie alle sehr schwer, einige fast gar nicht löslich, dagegen lösen sie sich alle in Alkalihydraten, manche in Am-

¹⁾ H. Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. Berlin 1903.

moniak. Mit Mineralsäuren, in denen sie sich leichter oder schwerer lösen, bilden sie kristallisierende Salze. Sehr charakteristisch ist, daß alle Purinbasen in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt werden. Auch durch Quecksilberchlorid, besonders aber durch ammoniakalische Silberlösung werden sie abgeschieden. Mit Pikrinsäure geben sie, ausgenommen Xanthin, Methylxanthin, Heteroxanthin, kristallisierende Salze. Durch Bleiessig und Ammoniak werden alle Basen, Epiguanin ausgenommen, gefällt, das Gleiche ist der Fall mit essigsauerm 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. Dasselbe ist entweder ein amorphes weißes Pulver, beim Reiben wachsglänzend, oder es kristallisiert 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 Horbaczewski erst bei ca. 130° entweicht. Beim raschen Auskristallisieren, namentlich aus unreinen Lösungen, kommen der Harnsäure ähnliche Kristalle 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 Chlorealcium füllen es aus ammoniakalischer Lösung. Charakteristisch ist das Silbersalz, das aus einer Lösung von Xanthin in Ammoniak durch Silbernitrat gefällt wird ($C_5H_4N_4O_2 \cdot Ag_2O$); in heißer	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). Beurteilung. Harnsäure gibt diese Probe auch. II. Xanthinprobe. Man löst eine kleine Menge in heißer Salpetersäure und verdampft im Wasserbad zu Trockne, wobei ein zitronengelber 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 erkennen (Unterschied von Harnsäure). III. Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge Xanthin in Substanz, so bildet sich

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
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. s-Methylxanthin. Kristallisiert aus Wasser in farblosen kleinen Kristallen (Rosetten), aus salzsaurer oder ammoniakalischer Lösung in lockeren, glänzenden Massen, aus essigsaurer Lösung in dünnen sechsseitigen 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 hierbei wie Xanthin. Heteroxanthin. Aus heißem Wasser kristallisiert 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 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. Paraxanthin. Glänzende, sechsseitige Tafeln in Büscheln und Rosetten (seidenglänzend); schmilzt bei 295°.	um dieses ein dunkelgrüner Hof, der sich braun färbt und dann verschwindet. Gibt die Xanthinreaktionen. I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe. II. Charakteristisch: Löst man salzsaures Heteroxanthin in verdünnter erwärmter Natronlauge, so scheiden sich beim Erkalten glänzende Kristalle, schiefwinklige Tafeln, Prismen, meist Zwillinge von Heteroxanthinnatrium aus. (Unter dem Mikroskop beobachten!) I. Gibt die Weidelsche Probe, nicht die Xanthinprobe.

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
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. Hypoxanthin (Sarkin). Farblose Kristalle, 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 Kristalle, aus verdünnten Lösungen wasserfrei in wetzsteinförmigen kleinen Kristallen sich ausscheidend, die beim Liegen an der Luft undurchsichtig, trüb werden, besonders beim Erwärmen der Kristalle in wenig Wasser bei 53°. In etwa 1080 Teilen kalten, leicht in heißem Wasser löslich, leicht löslich auch wieder in Alkalien, unlöslich in Äther und Chloroform. Guanin. Aus konzentrierten Lösungen amorph sich ausscheidend erhält man dasselbe aus einer sehr verdünnten warmen Lösung in Lauge nach Zusatz von $\frac{1}{3}$ Volumen Alkohol und überschüssiger Essigsäure in großen Kristallen (ähn-	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 Natronsalz des Heteroxanthins. I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Gibt die auch für Adenin charakteristische Reaktion. I. Xanthin- und Weidelsche Probe negativ. II. Charakteristisch ist das Verhalten der Kristalle beim Erwärmen (Trübwerden) und das Golddoppelsalz. Eine Lösung von salzsaurem Adenin gibt mit Goldchlorid einen charakteristischen aus würfelförmigen, prismatischen, auch blattförmigen Kristallen bestehenden Niederschlag (Mikroskop). III. Mit Zink und Salzsäure reduziert ($\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad) nimmt eine Lösung von Adenin (ebenso Hypoxanthin) eine vorübergehende Rotfärbung an; die filtrierte Lösung wird auf Zusatz überschüssiger Natronlauge an der Luft rubinrot, dann braunrot (Azulminsäure) (Kossel u. Fischer). I. Gibt die Xanthinprobe mit braunroter, beim Erhitzen blauvioletter Farbe. II. Charakteristisch: 1. Das Pikrat, das in goldgelben, in kaltem Wasser fast

(Fortsetzung.)

Eigenschaften	Qualitativer Nachweis
lich 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, kristallisiert aber beim Erkalten in feinen Nadeln aus.	unlöslichen Kristallen kristallisiert (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, zitronengelben Niederschlag. 2. Konz. Ferricyankaliumlösung gibt mit verdünnter Guaninlösung gelbbraune prismatische Kristalle in warmem Wasser löslich. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag. 3. Das salzsaure Salz kristallisiert in langen, büschelförmigen oder strahlenförmig angeordneten Kristallen (Mikroskop).
Epiguanin. Kristallisiert 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 Natriumkarbonatlösung, sehr leicht in verdünnter Natronlauge und in Säuren (auch Schwefelsäure). Aus der Lösung in heißer 33% Natronlauge erhält man die Natriumverbindung in stark glänzenden breiten Nadeln. Ammoniakalische Silberlösung fällt Guanin, nicht aber Bleiacetat oder Bleiacetat und Ammoniak.	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 nachdem die Purinbasen durch verdünnte Schwefelsäure von der Harnsäure getrennt sind.

Erforderliche Lösungen.

1. Ammoniakalische Silberlösung, wie S. 153 oder 3% Silbernitratlösung.
2. Magnesiamischung (S. 153).
3. Verdünnte Schwefelsäure (10 ccm : 550 ccm Wasser).
4. $\frac{1}{50}$ Normalrhodanammunlösung, eingestellt mit einer $\frac{1}{50}$ N. Silberlösung (3,4 g Silbernitrat im Liter) S. 54.

Ausführung:

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

Man spritzt denselben 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 Niederschlag zur vollständigen Zerlegung desselben Schwefelwasserstoff ein; man kann auch, wie S. 154 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 er-

¹⁾ Pflügers Archiv 1898. 69. 280.

²⁾ Analyse des Harnes 1898. 829.

hitzt, 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 behufs 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 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 Seite 55 angegeben nach Volhard mit der $\frac{1}{50}$ Normalrhodanlösung titriert.

1 ccm $\frac{1}{50}$ Rhodanammonlösung = 0,00152 Xanthin.

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 niemals gefunden werden können.

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

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

3. Nach M. Krüger und J. Schmid.¹⁾

Prinzip.

Durch Kupfersulfat mit Natriumbisulfid werden Harnsäure und Purinbasen als Kupferoxydulverbindungen gefällt. Die Harnsäure wird aus der wässerigen Lösung durch Salzsäure entfernt; aus dem Filtrate werden die Purinbasen wieder als Silber- oder Kupferoxydulverbindung abgeschieden. Man ermittelt endlich den Stickstoff der Harnsäure, wie den der Purinbasen.

Erforderliche Lösungen:

1. Käufliche Natriumbisulfidlösung (Kahlbaum).
 2. 10% Kupfersulfatlösung.
 3. Natriumsulfidlösung (S. 153).
 4. Aufschwemmung von Braunstein in Wasser. Eine heiße 0,5% Lösung von Kaliumpermanganat wird mit Alkohol bis zur Entfärbung versetzt.
 5. 10% Salzsäure.
 6. 10% Essigsäure.
- Für die Bestimmung der Purinbasen nach der Silberfällung noch
7. Ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamischung (S. 153).
 8. 6% Dinatriumphosphatlösung.

Ausführung:

Der vierte oder fünfte Teil der auf 1600 oder 2000 ccm verdünnten Tagesmenge des von Eiweiß befreiten Harnes, 400 ccm, werden 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 Menge der vorhandenen Purinkörper) mindestens drei Minuten lang noch 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 ca. 200 ccm heißem Wasser in den beim Füllen benutzten Kolben zurück; man erhitzt wieder zum Sieden und zersetzt die Kupferverbindung mit 30 ccm Natriumsulfidlösung. (Ein Tropfen der Flüssigkeit muß auf Bleipapier Braunfärbung hervorrufen, es muß Natriumsulfid im Überschuß 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 fil-

¹⁾ Nach Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch. Berlin 1903. (Noch nicht publizierte, von Herrn M. Krüger Herrn Prof. Thierfelder mitgeteilte Methode.)

triert und den Filtrerrückstand gut mit heißem Wasser auswäscht. Das Filtrat wird nach Zusatz von 10 ccm 10 % Salzsäure in einer Porzellanschale auf ca. 10 ccm eingedampft, die abgeschiedene Harnsäure durch ein kleines Filter abfiltriert, mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen (Filtrat und Waschwasser betragen 75 ccm) und der Filtrerrückstand mit Filter nach Kjeldahl behandelt (S. 108). Man multipliziert den gefundenen N mit 3 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 % 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 und 5—10 ccm der 10 % Kupfersulfatlösung hinzufügt. Man lässt die Flüssigkeit ca. drei Minuten lang kochen, filtriert den Niederschlag sofort durch ein Faltenfilter aus schwedischem Papier, wäscht mit heißem Wasser aus und bestimmt den Stickstoff 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 Absitzen, 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 und dann die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen.

Beurteilung.

Es gilt hier das bei der Salkowskischen Methode Gesagte. Die Ausführung dieser Methode ist eine wesentlich einfachere, besonders bei Anwendung der Kupferfällung, und scheint die Methode wirklich recht brauchbar zu sein.

4. Als weitere empfohlene Bestimmungsmethoden sind noch folgende zu erwähnen:

a) Fällern mit Phosphorwolframsäure.

Eine abgemessene Menge eiweißfreier Harn wird nach Hoffmeister¹⁾ abwechselnd mit soviel Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Nach 24stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert, mit verdünnter Schwefelsäure (5:100) ausgewaschen, dann mit überschüssigem Bariumhydroxyd in der Wärme zersetzt und das Filtrat durch Zusatz von Schwefelsäure im Überschuß von Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, die nun frei von Harnsäure ist, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der alle Xanthinbasen enthaltende Niederschlag gesammelt, ausgewaschen, 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) Haycraft²⁾, Herrmann³⁾, Denigès⁴⁾ 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 modifizierten Form nach Haycraft.

50 ccm Harn versetzt man mit je 5 ccm der Ludwigschen Magnesiämischung 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 dasselbe. Dann wird der Filterrückstand, ebenso das Becherglas, gut mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen und der chlor- und silberfrei gewaschene Niederschlag auf dem Filter durch Übergießen mit 20–30 % ganz reiner Salpetersäure gelöst. Man wäscht das Filter mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrate vom gelösten Filterrückstande die Menge des Silbers in der S. 54 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 Denigès.

Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{50}$ N. Silberlösung.

2. Silbermagnesiämischung; 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium löst man in ungefähr 750 ccm 20 % Ammoniak, füllt

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

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1885. 25. 165.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1888. 12. 496.

⁴⁾ Compt. rend. 1893. 117. 1078.

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 % Jodkaliumlösung mit 2 % Ammoniak.
4. $\frac{1}{20}$ N. Cyankaliumlösung; 10 g reines Cyankalium löst man in ca. 1 Liter Wasser und setzt zur größeren Haltbarkeit 10 ccm 20 % 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 % 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 ca. 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 $\frac{1}{50}$ 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 $\frac{1}{50}$ $\text{AgNO}_3 = 0,00336$ Harnsäure.

Die auf die gefundene Harnsäure treffenden, leicht zu berechnenden Kubikzentimeter Silberlösung zieht man von den bei der obigen allgemeinen Bestimmung verbrauchten ab; der Rest kommt den vorhandenen Xanthinbasen zu.

1 ccm = 0,00152 Xanthin.

Jodhaltige Harne 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.

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 % Ammoniak zu 300 ccm aufgefüllt. Vom Filtrate werden 125 ccm (= 100 ccm Harn) mit 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung (S. 153) 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 Niederschlage durch Aufgießen von Wasser (ca. 250–500 ccm).

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

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

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 $\frac{1}{10}$ Schwefelsäure	= 0,0042 Harnsäure.
100 Teile Harnsäure	= 33,3 N.
100 „ Xanthin	= 36,84 N.

5. Bestimmung der Xanthinbasen für klinische Zwecke.

a) Nach A. Jolles.¹⁾

Prinzip.

In dem eiweißfreien Harn bestimmt man einerseits den Harnsäurestickstoff, andererseits den Harnsäure- und Purinbasenstickstoff nach vorhergegangener Oxydation volumetrisch. Die Differenz beider Ablesungen bezeichnet den Purinbasenstickstoff.

Ausführung.

100 ccm eiweißfreier Harn wird wie bei der Harnsäurebestimmung nach Ludwig-Salkowski angegeben (S. 153) mit 10 ccm der Silberlösung und 10 ccm der Magnesiamischung versetzt. Man filtriert nach 15–20 Minuten, wäscht auf der Saugflasche mit schwach ammoniakalischem Wasser chlorfrei, breitet das Filter auf ein Uhrglas aus und spült den Niederschlag in ein Becherglas mit heißem destilliertem Wasser. Hierauf bringt man in das Becherglas einen Löffel (ca. 0,1 bis 0,2 g) gebrannte Magnesia und erwärmt so lange, bis den Dämpfen ausgesetztes feuchtes rotes Lackmuspapier nicht mehr gebläut wird, was ca. eine Stunde dauert. Am zweckmäßigsten zersetzt man den Niederschlag mit Schwefelalkali, noch besser mit Schwefelwasserstoff in der S. 154 angegebenen Weise, filtriert, wäscht mit heißem Wasser aus und säuert dann das Filtrat mit 20–30 ccm Schwefelsäure an. Man erwärmt das mit Uhrglas bedeckte Becherglas auf einem Drahtnetze mit schwacher Flamme und setzt so lange portionenweise Permanganatlösung (im Liter 8 g) hinzu, bis der letzte Permanganatzusatz nach $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen nicht mehr verschwindet (S. 156). Nach beendigter Oxydation wird neutralisiert und überhaupt so verfahren, wie es bei der Harnsäurebestimmung S. 155 genau angegeben ist.

Man berechnet aus der abgelesenen Stickstoffmenge mit Hilfe der Tabelle S. 112 und 113 den den Purinkörpern zu-

¹⁾ Centralbl. innere Mediz. 1900. 21. Nr. 36.

kommenden Stickstoff, also Harnsäurestickstoff + Purinbasenstickstoff.

In einer anderen Harnprobe hat man nach der S. 155 angegebenen Methode die Harnsäure, den Harnsäurestickstoff allein bestimmt. Purinkörperstickstoff — Harnsäurestickstoff = Purinbasenstickstoff.

Beurteilung.

Gibt für klinische Zwecke hinreichend genaue Resultate; zudem ist die Methode sehr einfach in der Ausführung, so daß dem Mangel einer für klinische Zwecke dienenden Methode der Purinbasenbestimmung wohl abgeholfen ist.

b) Die beiden Methoden der Xanthinkörperbestimmung nach L. Niemilowicz.¹⁾

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 Indikatoren Körper mit genügend großen Unterschieden in der Reaktionsgeschwindigkeit quantitativ voneinander getrennt werden können. Man kann also die Reduktionsfähigkeit der Harnsäurestufe und die in Bezug auf die Reduktionsfähigkeit die Harnsäure ersetzenden Mengen anderer Körper bestimmen.

Erforderliche Reagentien.

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

1. Wässerige Orthophosphorsäurelösung, spez. Gew. 1,094 = 16,66 Teile Orthophosphorsäure in 100 Teilen Lösung.
2. 0,5 % wässerige Indigokarminlösung (1 g Indigokarmin puriss. sicc. Grübler: 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 Natron gepulvert oder frisch bereitete 10 % Lösung.
6. 20 % Ammoniak und
7. Käufliche 4 % Wasserstoffsuperoxydlösung.

II. Reagentien für Purinkörper-Bestimmung nach Denigès (S. 175).

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 % Phosphorsäure hinzu,

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 35. 264.

bis eine Reaktion auf Kongo zum Vorschein kommt und dann darüber hinaus noch 1,5 ccm derselben Säure.

Ist die Reaktion alkalisch, so versetzt man den Harn mit verdünnter Salzsäure bis zur sauren Reaktion auf Lackmus und verfährt wie angegeben.

Dann gibt man 1 ccm Indigokarminlösung hinzu und versetzt unter fortwährendem Umschwenken tropfenweise und möglichst annähernd einen 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 Indigokarminlösung hinzu und titriert mit Chamäleon wieder bis zum rötlichen Stich, aber viel langsamer als das erste Mal; dasselbe wiederholt man zum dritten Male. Jetzt wartet man etwa zwei Minuten ab, bis die Flüssigkeit wieder grünlich geworden ist und, falls 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 Kongo muß stark bleiben) 1 ccm 10 % frischer Natriumsulfitlösung oder einige Stäubchen des gepulverten Salzes hinzu, um den eventuellen Überschuß von Permanganat auf die Oxydul- oder Oxydstufe zu bringen und uroroseinartige 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, bringt dann genau 75 ccm Silbermagnesiummischung nach Denigès hinzu und füllt unter Zusatz von 2 ccm Wasserstoffsuperoxydwasser mit Wasser bis zur Marke 200 ccm auf. Man mischt

und stellt 15—25 Minuten ins Dunkle. (Schwach reduzierende Harne läßt man 25 Minuten stehen.) Man filtriert erst die Flüssigkeit ab, bringt dann den Niederschlag auf das (doppelte) Faltenfilter und filtriert das Filtrat, im Falle es nicht ganz klar sein sollte, nochmals. Von dem 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 ca. 12 oder man muß die Nettooxydationszahl (S. 181) berechnen, die berechnete Menge der N. Chamäleonlösung dem ursprünglichen entsprechend angesäuerten Harne ohne Indigokarmin 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 Silbermagnesiemischung, 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-Meßkolben 100 ccm Wasser, 4 ccm 16,66 % Orthophosphorsäure, 4 ccm Normalätsoda, 1 ccm 10 % Natriumsulfid und darauf 2 ccm 20 % Ammoniak, dann 75 ccm Silbermagnesiemischung 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 % 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.

β) 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 Niederschlage.

Erforderliche Reagentien.

1. Orthophosphorsaure Lösung, wie bei α.
2. $\frac{1}{10}$ N. Chamäleonlösung.
3. Schwefligsaures Natron.
4. 20 % Ammoniak.
5. Ammoniakalische Silberlösung nach E. Ludwig (S. 153).
6. $\frac{1}{50}$ Rhodanammoniumlösung.

7. 2,5 % Eisensulfatlösung.
8. Reine konz. Salpetersäure.
9. Künstliches 4 % Wasserstoffhyperoxydwasser.
10. Asbestfilter nach Haycraft-Herrmann (auch Goochscher 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 α 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 Indigokarmin) die Menge in Kubikzentimetern der $\frac{1}{10}$ N. Chamäleonlösung, verbraucht für die verwendeten Kubikzentimeter Indigokarmin 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 Harn die eigentliche Nettooxydationszahl sonst zu niedrig ausfällt. Die notwendige Verdünnungsformel gibt die Gleichung

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

In dem nach dieser Formel verdünnten Harn bestimmt man die Bruttooxydationszahl (*BtO* verd.), welche nach Abzug der für das Indigokarmin verbrauchten Zahl (*JCO*) die Nettooxydationszahl (*NtO* verd.) ergibt. Diese letztere durch die Verdünnung v multipliziert, gibt die korrigierte Nettooxydationszahl (*NtO* korrig.).

Zu 500 ccm Harn setzt man in einem 1 Liter fassenden Becherglase die fünffache Menge der notwendigen Menge an Orthophosphorsäure (wie S. 178 ermittelt) und dann 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 mittels eines Wasserstrahlgebläses 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 dann mit 1 ccm 10 % Natriumsulfits und läßt die saure Lösung entsprechend und zwar im Verhältnisse zum spezif. Gewicht des ursprünglichen Harnes eindampfen. Man dampft auf dasjenige Volumen oder Gewicht ein, welches durch die vier Dezimalen des spezif. Gewichtes des ursprünglichen Harnes angezeigt wird + 20 ccm; man macht sich zu diesem Zweck schon von vorn-

herein am Eindampfgefäß eine Marke. Das Eindampfen geschieht zuerst über freiem Feuer und zwar so lange, 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 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 Wasserstoffhyperoxydwasser 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 %) auf, um durch Dekantieren den Niederschlag zu waschen. Während sich der letztere absetzt, wäscht man das Filter mit Ammoniakwasser durch dreimaliges Aufgießen aus. Dann dekantiert man die Flüssigkeit vom Niederschlage ab, auf den man wieder frisches Wasser aufgießt, wäscht das Filter wieder 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 Natriumbikarbonat 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 % Eisensulfatlösung hinzugegeben und mit $\frac{1}{50}$ N. Rhodanammonium titriert.

1 ccm $\frac{1}{50}$ N. Rhodanammon = 1,68 mg Xanthinkörper als Xanthin berechnet.

Beurteilung.

Nach G. Gittelmacher-Wilenko¹⁾ gibt dieses Verfahren brauchbare Zahlen. Bei Rheumharn ist die Farbe etwas störend. Ich habe die Methode noch nicht geprüft.

Wahl der Methode.

Die brauchbaren Methoden und die einschlägige Literatur wurden hier absichtlich alle erwähnt und besprochen, nachdem man dem Vorkommen und Nachweise der Purinbasen gegenwärtig erhöhtes Interesse zuwendet.

Die unter 1 angeführte Methode gilt als die beste; es geben auch die übrigen brauchbare Zahlen.

Für klinische Zwecke verwendet man wohl am besten das Jollesche Verfahren.

Ein neuerdings angegebenes klinisches Verfahren der Bestimmung des Gesamtgehaltes von Purin im Harn mittels des „Purinometers“ kann für eine nur einigermaßen genaue Prüfung nicht empfohlen werden.

21. Oxyproteinsäure. Uroprotsäure.

22. Alloxyproteinsäure.

Die Oxyproteinsäure, eine stickstoff- und schwefelhaltige Säure, wurde von St. Bondzynski und R. Gottlieb²⁾ gleichzeitig mit M. Cloëtta³⁾ im Harn aufgefunden. Neben dieser Säure fanden St. Bondzynski und K. Planck⁴⁾ noch eine solche stickstoff- und schwefelhaltige Säure, die mit der ersten große Ähnlichkeit zeigt. Beide Säuren sind konstante Bestandteile des Harnes und nahe Abkömmlinge des Eiweißmoleküls; die Bildung derselben ist aufs innigste mit dem Eiweißumsatz verknüpft. Von der Alloxyproteinsäure werden in 24 Stunden ca. 1,2 g von einem Gesunden ausgeschieden, so daß also 0,68 % des Gesamtstickstoffes auf diese Säure entfallen.

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

²⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1897. 577.

³⁾ Arch. exp. Path. Pharmacolog. 1897. 40. 29.

⁴⁾ Berl. Ber. 1902. 35. 2959.