

(Aus der Klinik für Nerven- und Geisteskrankheiten der Kgl. Universität in Catania
[Direktor: Prof. V. M. Buscaino].)

Untersuchungen über den Harn von Amentia- und Dementia praecox-Kranken.

II. Mitteilung: Über Proteinsäure.

(Beitrag zur Frage der Schwarzharnreaktion von *Buscaino*.)

Von

Dr. S. Gullotta.

(Eingegangen am 24. Februar 1930.)

An meine vorhergehenden Arbeiten anknüpfend, möchte ich hier auf eine Frage eingehen, die dort nur berührt werden konnte; nach meiner Ansicht jedoch bedarf sie einer näheren Erörterung.

Im Laufe mehrerer und mehrfacher Harnuntersuchungen von den im Titel erwähnten Kranken habe ich nicht nur die Positivität der *Ehrlichschen* Diazo- und der *Weißschen* Permanganatreaktion, sowie die Herabsetzung der Oberflächenspannung mit *Hay's* Reaktion wahrgenommen, sondern auch die Vermutung daraus geschöpft, daß bei solchen Kranken eine Zunahme der Proteinsäure zu verzeichnen sei. Diese Vermutung hat eine Bestätigung darin gefunden, daß bei Prüfung der aus denselben Harnen isolierten millonpositiven Verbindung das Vorkommen von Stickstoff und Schwefel festgestellt werden konnte.

Demzufolge habe ich bei diesen Untersuchungen einen neuen Weg eingeschlagen und auf das Studium der Proteinsäure mein besonderes Augenmerk gelenkt, wobei es festzustellen galt, ob die *Buscaino*-Reaktion mit denselben im Zusammenhang stünde und ob, wie gesagt, im Harn der besagten Kranken eine Steigerung der Proteinsäure überhaupt zum Vorschein käme.

Dabei ist zu erwähnen, daß in bezug auf die Quantität der bei derartigen Krankheiten auftretenden Proteinsäure recht wenige und kaum zuverlässige Daten bestehen.

Soviel ich weiß, haben *Domanski* und *Neumann* allein diese Säure der Menge nach und in ihrer Gesamtheit bestimmt, und zwar *Domanski* bei einem chronischen Paranoid und bei einem Hebephrenen; *Neumann* bei 3 Dementia praecox-Kranken und in 6 Fällen von funktioneller Psychose. Diese beiden Autoren haben das *Salomon-* und *Saxlsche*

Verfahren angewendet und Normalwerte an Proteinsäure dabei festgestellt.

Da *v. Fürth* die Vermutung geäußert hat, daß bei dem Verfahren nach *Salomon* und *Saxl* ein großer Teil der Proteinsäure in Verlust gerät, habe ich bei diesen Untersuchungen *Fürth's* Methode angewandt; aber der Harnstoff wurde nicht durch Gärung vermittle der Urease von Sojabohnen, sondern durch ammoniakalische Gärung beseitigt, weil, wie aus *Scheiner's* Untersuchungen und aus meiner Bestätigung hervorgeht, die millonpositive Substanz von der ammoniakalischen Gärung nicht angegriffen wird. Demgemäß habe ich den Harn meiner Kranken so lange gären lassen, bis die Harnstoffreaktionen negativ ausfielen. Dann habe ich nach *Sassas* Verfahren die Barytfraction und die Proteinsäure daraus hergestellt.

Vor der quantitativen Bestimmung dieser Säure habe ich die drei Proteinsäuren mit der Methode von *Bondzynski*, *Dombrowski* und *Panek* isoliert; von jeder Säure habe ich weiter das Stickstoffprozent bestimmt und die Reaktionen nach *Buscaino*, *Millon*, *Ehrlich* und *Weiß* geprüft, um festzustellen, ob besagte Reaktionen mit irgendeiner oder ja mit allen diesen Säuren positiv ausfielen.

5 Liter Urin von zwei Amentiakranken in komatösem Zustand, welcher mit den Reaktionen von *Buscaino*, *Millon*, *Ehrlich*, *Weiß* stark positiv ausfiel, wurden mit Essigsäure leicht angesäuert und zu verdünntem Sirup bei 50° C eingeeengt. Dieser Sirup wurde dann mit verdünnter Schwefelsäure bis zur schwachen Blaufärbung des Kongopapiers angesäuert und dann mit 3 Volumen Alkohol behandelt. Auf diese Weise scheiden die Alkalimetalle und das Calcium als Sulfat aus und werden die Proteinsäuren freigemacht. Die nach eintägigem Stehen abgeschiedenen Alkalisulfate wurden auf einem Filter gesammelt und mit 70%igem Alkohol gewaschen. Das alkoholische Filtrat wurde bei 37° C stark eingeeengt. Die übriggebliebene sirupartige Flüssigkeit wurde im *Schwarzschen* Apparat mit Äther extrahiert. Die durch ätherische Extraktion von den organischen stickstoff-, aber nicht schwefelhaltigen Säuren befreite Flüssigkeit wurde mit einem Überschuß von Barytwasser und dann mit Kohlensäure behandelt. So wurden durch Filtrierung sämtliche im Harn enthaltenen Säuren (Schwefel-, Phosphor- und Harnsäure) beseitigt und die Alkalisalze der Proteinsäuren in Bariumsalze umgewandelt.

Nach Eindampfen im Vakuum wurde der sirupartige Rückstand im Exsiccator lange stehen gelassen, um das Natriumchlorid durch Krystallisierung zum Auscheiden zu bringen, und das Ganze abfiltriert. Nach dem Entfernen eines großen Teils des Natriumchlorids durch Auskrystallisieren in der Kälte wurde der Rückstand mit konzentriertem Alkohol gefällt. Der erhaltene Niederschlag von Bariumsalzen wurde, nach dem Trocknen im Exsiccator, in Wasser gelöst und die Lösung mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag enthielt die Körper der Alloxypoteinsäuregruppe und wurde zur Darstellung derselben verwendet; das Filtrat diente zur Darstellung der Antoxypoteinsäure; zu dem Zweck mußte aus diesem Filtrat aber vorerst nicht nur das Blei, sondern auch die Essigsäure entfernt werden. Das Blei wurde mit Natriumcarbonat ausgefällt; die Essigsäure konnte nur durch Äther entzogen werden. Das Filtrat von Bleicarbonat wurde mit Essigsäure neutralisiert, eingeeengt und nach dem Entfernen der Alkalimetalle mit 1½ Volumen Alkohol und Verjagen des Alkohols im *Schwarzschen* Apparate, mit Äther extrahiert. Das

mit Äther ausgezogene essigsäurefreie Säuregemisch wurde in Bariumsalze umgewandelt, welche mittels Fällung mit Alkohol schließlich im trockenen Zustand erhalten wurden.

Dieses Präparat von Bariumsalzen, welches frei von Natriumacetat war, diente nun zur Fällung mit Quecksilberacetat. Seine wässrige Lösung wurde mit Essigsäure leicht angesäuert und mit einer 20%igen Lösung von Quecksilberacetat versetzt. Es entstand ein viel reichlicher Niederschlag, der zur Darstellung der Antoxyproteinsäure diente. (Diese Fraktionierung wurde mit Sorgfalt gemacht, weil ein Teil der Quecksilbersalze in einem Überschuß von Essigsäure löslich ist.)

Im Filtrat entsteht beim Neutralisieren eine Fällung; es wurden abwechselnd bald die Lösung von Quecksilberacetat, bald eine Sodalösung so lange zugesetzt, bis ein weißer Niederschlag noch ausfiel. Mit dem Erscheinen eines gelben Niederschlags wurde die Fällung unterbrochen. Dieser Niederschlag diente zur Darstellung der Oxyproteinsäure.

Zur Darstellung der Antoxyproteinsäure hingegen wurde der Quecksilberniederschlag auf einer Nutsche abgesaugt, durch wiederholtes Herausnehmen aus dem Trichter und Zerreiben mit Wasser in einem Porzellanmörser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion im Filtrat ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. In der schließlich erhaltenen schwefelwasserstofffreien Lösung (nach dem Verjagen von Schwefelwasserstoff mittels Durchtreibens eines Luftstroms) wurde die Antoxyproteinsäure mittels Bariumhydrat gebunden und, nach dem Ausfällen des Barytüberschusses mit Kohlensäure sowie nach Konzentrieren der Flüssigkeit in vacuo bis zur Sirupkonsistenz, durch Eingießen in konzentrierten Alkohol als Bariumsalz gefällt.

Der Stickstoffgehalt des Bariumsalzes der Antoxyproteinsäure stellte sich in zwei Bestimmungen im Ausbeute von 12,6 bzw. 12,8% dar. Die Millonsche Reaktion war im Quecksilbersalz höchst intensiv, konnte aber im Bariumsalz nicht durchgeführt werden, da es alkalisch reagierte.

In der Antoxyproteinsäurefraktion waren die Reaktionen von *Buscaino*, *Millon*, *Ehrlich* und *Weiß* desgleichen recht stark. Überdies zeigte das Präparat einen Schwefelgehalt, sei es als Neutralschwefel, sei es in sulfoätherischer Form.

Mit der Phosphorwolframsäure erhielt man Fällung und Reduktion. Diese Antoxyproteinsäure verhält sich teils wie die von *Hart* geschilderte Säure (mit denselben Eigentümlichkeiten der Zink-, Cadmium- und Silbersalze), teils wie die von *Bondzynski* beschriebene Säure (mit den Eigentümlichkeiten der Bariumsalze). Mit der Hydrolyse schied der größte Teil des Stickstoffs aus, der sich als locker gebunden erwies.

Behufs Herstellung der Alloxyproteinsäure wurde der Bleiniederschlag mit Wasser durchgespült und mit Oxalsäure zerlegt, nachher wurde das Bariumsalz der Alloxyproteinsäure genau nach *Bondzynski*s Angaben bereitet: aus dem rohen Bariumalloxyproteinat wurde nämlich das Barium mittels Natriumcarbonatlösung gefällt, das durch die Filtrierung gefällte Bariumcarbonat entfernt, das mit Essigsäure leicht angesäuerte Filtrat mit einer 20%igen Quecksilberacetatlösung so lange behandelt, bis die auf dem Niederschlag stehende Flüssigkeit wasserklar wurde. Das Filtrat wurde mit Soda neutralisiert und mit Quecksilberacetat so lange gefällt, bis der Niederschlag weiß wurde. Nach gründlicher Ausspülung wurde der Niederschlag der üblichen Art in Bariumsalz umgewandelt und letzteres mit Alkohol gefällt.

Das so erhaltene chlorfreie Präparat hatte einen 7%igen Stickstoffgehalt; es zeigte weder die *Buscaino*-, noch die *Millon*- noch die *Ehrlich*sche Reaktion.

Auch das eigentliche Oxyproteinsäurepräparat, welches nach *Bondzynski*s Angaben erhalten wurde, wies keine der genannten Reaktionen, aber einen 10,7%igen Stickstoffgehalt auf.

Im Filtrate des Alkoholniederschlages wurden obige Reaktionen in der Fraktion der Hexonbasen sowie in der Histidinfraktion aufgesucht; nur die Diazoreaktion war positiv, aber schwach.

Aus diesen Untersuchungen geht also hervor, daß die mit den Reaktionen von *Buscaino*, *Millon*, *Ehrlich* und *Weiß* reagierende Verbindung nur in der Fraktion der Antoxyproteinsäure vorkommt.

Der Stickstoffgehalt des Bariums Salzes der Antoxyproteinsäure stellte sich, im Gegensatz zu den Angaben von *Bondzynski*, *Dombrowski* und *Panek* (die über 15% Stickstoff vorfanden) in *Ausbeute von 12,7%* dar.

Um die Menge der Proteinsäuren zu bestimmen und demnach eine eventuelle Zunahme derselben zu erfahren, habe ich bei Harnen von Amentiakranken, nach vorheriger Feststellung von Gesamtstickstoff, die Bestimmung des Stickstoffes sowohl aller Proteinsäuren, als auch der Antoxyproteinsäure allein, in Angriff genommen.

1. Fall. 1 Liter Harn von einer Verwirrten (eiweißfrei, frei von anderen pathologischen Zusammensetzungen, mit intensiv schwarzer *Buscaino*-Reaktion, mit stark positiven Reaktionen für die aromatischen Substanzen), dessen Gesamtstickstoff 3,28 g pro Liter ausmachte, wurde mit einigen Kubikzentimeter normalen gegorenen Harns in dem Thermostat bei 37° C drei Tage lang stehen gelassen und unter Zusatz von etwas Essigsäure auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingeeengt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure bis zur Blaufärbung von Kongopapier angesäuert, dann mit 4 Liter 95%igem Alkohol versetzt. Die ausgeschiedenen schwefelsauren Alkalisalze wurden vom klaren Filtrat entfernt und mit verdünntem Alkohol nachgewaschen. Das vereinigte Filtrat wurde zuerst mit Wasser verdünnt, dann mit fein gepulvertem Bariumhydroxyd im Überschuß gefällt und durch Kohlensäure vom Barytüberschuß befreit. Das ganze Gemisch wurde, ohne zu filtrieren, auf dem Wasserbade eingeeengt. Hierauf wurde der Niederschlag vom klaren Filtrate filtriert und mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat samt Waschwasser wurde wiederum bis zu dicker Sirupkonsistenz eingeeengt. Der Sirup wurde mit Kieselgur versetzt und die Masse zu einem feuchten Pulver zerrieben; dieses wurde nunmehr im verschlossenen Glase mit 1 Liter Ätheralkohol unter beständigem Durchschütteln einen Tag lang aufbewahrt. Es wurde nun zweimal mit Ätheralkohol dekantiert, auf dem Wasserbade getrocknet und die Masse hierauf im Mörser zu feinstem Pulver zerrieben. Um das so erhaltene Pulver von alkohollöslichen Beimengungen zu befreien, wurde dasselbe im Soxhletapparat mit absolutem Alkohol einen Tag extrahiert. Dann wurde das Pulver getrocknet, neuerdings zerrieben und wiederum im Soxhlet 12 Stunden lang extrahiert. Mit dem letzten Extrakt wurden die Proben auf Harnstoff angesetzt; dieselben fielen negativ aus.

Nunmehr wurde das Pulver von der Extraktionsflüssigkeit befreit, mit warmem Wasser ausgelaugt, die Lösung filtriert, nachgewaschen und im Meßkolben auf 400 ccm aufgefüllt. Die so erhaltene „Barytfraction“ wurde in zwei Teile geteilt. Ein Teil (100 ccm) wurde mit wässriger 20%iger Mercuriacetatlösung und 10%iger Sodalösung abwechselnd so lange versetzt, bis ein dauernd gelb gefärbter Niederschlag auszufallen begann. Dieser wurde abfiltriert, ausgewaschen und samt dem Filtrat kjeldahlisiert.

Das so bestimmte *Proteinsäure-N* ergab in zwei gleichzeitigen Bestimmungen mit dem Mikrokjeldahlapparate 0,246 g pro Liter, d. i. 7,5% des Gesamt-N des Harns. Der andere Teil (300 ccm) des Barytsirupes wurde mit Bleiessig behandelt und das Filtrat (nach Entfernen des Bleies) in Bariums Salze umgewandelt; ihre

wässrige Lösung wurde mit Essigsäure leicht angesäuert und mit einer 20%igen Lösung von Mercuriacetat versetzt.

Mit dem Niederschlag der Antoxyproteinsäure wurden sämtliche Reaktionen für den in Frage kommenden cyclischen Komplex angestellt und das „Antoxyproteinsäure-N“ bestimmt.

Während alle Reaktionen positiv ausfielen, ergab der Stickstoff 0,2067 g pro Liter, i. e. 6,3% des Gesamt-N, daher 84% der „Proteinsäure-N“.

2. Fall. 1 Liter Urin von einem schweren Fall von Amentia mit psychomotorischer Erregung wurde genau wie der obenbesprochene Urin behandelt. Derselbe war frei von pathologischen Verbindungen, wies positive Reaktionen nach *Buscaino*, *Millon*, *Ehrlich*, *Weiß* und *Hay* auf und hatte einen Gesamtstickstoffgehalt von 5,521 g pro Liter.

Das „Proteinsäure-N“ resultierte im Ausmaße von 0,23 g pro Liter, nämlich 4,16% des Gesamt-N.

Der Stickstoffgehalt der Fraktion der „Antoxyproteinsäure“ erreichte 0,1725 g pro Liter, d. i. 3,12% des Gesamt-N und 75% des Stickstoffes sämtlicher Proteinsäuren.

*
* *

Da ich bei meinen vorhergehenden Untersuchungen über die cyclischen Komplexe wahrgenommen habe, daß bei gelinder Hydrolyse dieselben in Freiheit gesetzt werden, habe ich mir vorgenommen, die Menge der Proteinsäuren nach Hydrolysierung der mit *Buscaino*- und *Millon*-reaktion positiv ausgefallenen Harne zu bestimmen. Dies in der Vermutung, daß die cyclischen Komplexe in den Proteinsäuren enthalten wären.

1 $\frac{1}{2}$ Liter Urin eines Falles von Dementia praecox wurden nach Bestimmung des Gesamtstickstoffes (Gesamt-N 11,96 g pro Liter) in der Wärme mit 4%iger Schwefelsäure gelind hydrolysiert, dann eingengt und mit Äther extrahiert. Nach Ausschleiden des Äthers wurde der Sirup mit 5 Liter 96%igem Alkohol und nach Entfernen mittels Filtrierung der Alkalisulfate mit Baryt behandelt. Das Bariumfiltrat, welches durch Kohlensäure vom Barytüberschuß befreit worden war, wurde zu Sirup vereinigt und in einem Mörser mit Kieselgur verrieben. Nach Extraktion mit Alkohol im Soxhletapparat und nach Entfernen des Alkohols wurde das Pulver mit warmem Wasser ausgelaugt. Die Lösung der Barytfraktion wurde in zwei Teile geschieden: der kleinere, 500 ccm Harn entsprechende Teil, wurde mit einer Lösung von Mercuriacetat und Natroncarbonat behandelt und der Niederschlag sämtlicher Proteinsäuren kjeldahlisiert. Der Proteinsäurestickstoffgehalt betrug 0,218 g pro Liter, somit 1,82% des Gesamtstickstoffes.

Aus dem anderen, 1 Liter Urin entsprechenden Teile, wurden die drei Fraktionen der Proteinsäuren bereitet. Während die Antoxyproteinsäurefällung keine Spur von Stickstoff mehr aufwies, enthielt die Oxyproteinsäurefällung 0,040 g Stickstoff und die Bleiacetatfällung 0,180 g N.

Es scheint daher, daß mittels der Hydrolyse einerseits der phenolartige Komplex (p-Cumarsäure) befreit, andererseits die nicht starke Stickstoffverbindung der Antoxyproteinsäure zerstört wird.

Besprechung der Resultate.

Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes und -prozentes in dem hier geprüften Harn von zwei Amentia-kranken hat eine augenscheinliche

Zunahme der Proteinsäure- und im besonderen der Antoxyproteinsäure-Fraktion ergeben (s. Tabelle 1).

Diese Zunahme steht mit *Neumanns* Angaben in entschiedenem Widerspruche, denn er hat bei drei Fällen von Dementia praecox normale Werte an Proteinsäuren und bei sechs Fällen von funktioneller Psychose (1 Fall von Depression, 1 Fall von Hysterie, 4 Fälle von Psychopathie) eine geringfügige Andeutung auf Zunahme vorgefunden. Nach meiner Ansicht dürfte das verschiedene Ergebnis vom technischen Vorgehen *Neumanns* abhängen: durch Erhitzen des Urin mit Baryt tritt eine Hydrolyse ein, daher Ausscheiden des schwach gebundenen antoxyproteischen Stickstoffes und Einbuße der Antoxyproteinsäurefraktion.

Auch *v. Fürth* glaubt bestimmt, daß bei Salomon-Saxlverfahren, welches auch von *Neumann* für seine Untersuchungen angewendet wurde, ein großer Teil der Proteinsäuren in Verlust gerät. Dieser Verdacht fußt auf der Übereinstimmung meiner Bestimmungen der verschiedenen Fraktionen nach der Hydrolyse, mit jenen vom 3. Falle der Tabelle 1 von *Neumann*. Ein weiterer Umstand begründet diesen Verdacht: *Neumann* selbst gibt zu, auch die Bestimmung der Proteinsäuren mit der „direkten Methode“ von *Kojo* (mit Zinksulfat) versucht und dabei so hohe Werte errechnet zu haben, daß sie als unzweifelhaft verfehlt betrachtet werden müssen. Schließlich ist noch die Tatsache zu erwägen, daß man nicht weiß, ob *Neumanns* Fälle in einer Periode von Aromaturie studiert worden sind.

Freilich gestattet die Überprüfung von zwei einzigen Fällen noch kein Urteil, besonders auf einem so unbekannten Gebiete wie jenes der Proteinsäuren, denn man ist über die Zusammensetzung, die Spaltungsprodukte dieser Substanzen und auch über ihre Bedeutung recht wenig im Klaren. In der Tat wird ihnen einerseits jede chemische Individualität abgesprochen und werden sie als ein Komplex von tiefstehenden Protein-derivaten angesehen, die den Charakter von Polypeptiden eingebüßt haben und nur mit großen Harnstoffmengen vermischte Aminosäuren oder Kohlenhydrate darstellen. Andererseits versichern neuere Autoren die Individualität der Proteinsäuren und die Irrtümlichkeit jener Befunde, auf deren Grund die Proteinsäuren mit dem Harnstoff näher verwandt wären als mit den Proteinen (*Brings, v. Fürth*). In der Tat ist der Beweis erbracht worden (*Giedroye*), daß der Harnstoff weder mit der Mischung der Proteinsäuren noch mit der eigentlichen Oxyproteinsäure in irgendeiner Gestalt zu tun hat.

Auf Grund meiner Untersuchungen kann ich über die *Individualität* der Antoxyproteinsäure dies sagen: in ihrer Fraktion habe ich ein komplexes Cumaderivat, eine stickstoffhaltige ihren Stickstoff leicht abgebenden Substanz, weiter Schwefel (sei es in sulfoätherischer Form, sei es als neutralen Schwefel) gefunden.

Ich bin jedoch der Ansicht, daß diese Antoxyproteinsäure bei den verschiedenen Krankheiten nicht identisch ist: während im normalen Menschenharn der Stickstoffgehalt des Antoxyproteinsäurebariumsalzes nach *Bondzynski* zwischen 15,1 und 15,99% schwankt, hat *Sendju* in den Harnen von Typhuskranken einen Stickstoffgehalt von 13,39% vorgefunden. Statt dessen habe ich im Harne eines Amentiakranken nur 12,7% festgestellt (s. Tabelle 2).

Andererseits bringt die Tatsache, daß *Hermanns* aus den Harnen von Typhus-, Leberkrebs- und Tuberkulosekranken verschiedene Azo-

Tabelle 1. Stickstoff-

Im Harne von	Untersuchungen	Verfahren
Normalen	von Fürth	von Fürth-Sassa
Amentiakranken { 1. Fall	Gullotta	„ „
2. Fall	„	„ „

farbstoffe erhalten hat, auf den Gedanken, daß auch der in der Antoxyproteinsäure enthaltene cyclische Komplex bei den verschiedenen Krankheiten ändert. *Scheiner* hat gegenüber dem diazoreagierenden Harn ein Verhalten beobachtet, welches dem von *Hermanns* und *Sachs* betreffend eine Patientin mit Leberkrebs geschilderten Verhalten gleicht. Wie in meiner ersten Mitteilung erwähnt wurde, habe ich hingegen in einigen Harnen von meinen Amentia- und Dementia praecox-Kranken die von *Hermanns* in den Harnen von Tuberkulosekranken beschriebenen Eigenschaften beobachtet. Dies bestätigt die Vermutung, daß bei der *Millonschen* Reaktion mehrere cyclische Komplexe eine Rolle spielen. Meine diesbezügliche Ansicht geht aber dahin, daß *Buscainos* Reaktion nicht vom Erscheinen dieser aromatischen Substanzen im Harn allein abhängig gemacht werden kann. Ich habe Gelegenheit gehabt, einige Fälle zu beobachten, in denen die Silbernitratreaktion stark positiv, die *Millonsche* hingegen negativ war. Eher dürfte die Positivität der *Buscaino*-reaktion mit der Anwesenheit von Proteinsäure in Zusammenhang stehen. *Buscaino* mißt diese Reaktion der Anwesenheit von Aminoverbindungen bei.

Nun hat *Dombrowski* den Beweis erbracht, daß die Proteinsäuren, die sich gegenüber den Silbersalzen wie die Harnsäure verhalten (*Bondzynski*), verhältnismäßig bedeutende Mengen Aminostickstoff enthalten; welcher entweder mittels Formoltitrierung oder nach vorangegangener saurer Hydrolyse dargelegt werden kann.

Meine quantitativen Daten der Proteinsäurefraktionen könnten vielleicht zu hoch scheinen, um genau zu sein: ich glaube kaum, daß Einwände in bezug auf die Bewertung des Harnstoffes gerechtfertigt seien, wenn man bedenkt, daß bei diesen Untersuchungen eben Sorge getragen wurde, den Harnstoff zu beseitigen: ich habe *Sassas* Methode nach der ammoniakalischen Gärung angewandt und somit die Barytfraction hergestellt, wenn die Harnstoffreaktionen rein negativ ausfielen. Überdies habe ich mir die Mühe gegeben, um nicht in den von *Edlbacher* begangenen und von *Giedroyc* erhobenen Irrtum zu verfallen (nämlich,

gehalt und -prozent.

in 1 Liter Harn					
Gesamt-N in g	Proteinsäuren-N		Antoxyproteinsäure-N allein		
	im ganzen in g	in Prozenten des Gesamt-N	im ganzen in g	in Prozenten des Gesamt-N	in Prozenten des Protein- säuren-N
—	—	2,5 = 3,6	—	—	—
3,280	0,246	7,5	0,2067	6,3	84
5,521	0,230	4,16	0,1725	3,12	75

daß der Harnstoff die Eigentümlichkeit besitzt, durch Mercuriacetat von den Kochsalzlösungen wegen Bildung eines komplexen krystallinischen Mercurisalzes gefällt zu werden), vor der Quecksilberbehandlung das Natriumchlorid durch Krystallisierung zu entfernen. Durch dieses Vorgehen glaube ich allem Irrtum vorgebeugt zu haben und dürften

Tabelle 2. Stickstoffgehalt.

in 100 g Bariumsalze von	im Harn von		
	Normalen (nach <i>Bondzynski</i>)	Typhuskranken (nach <i>Sendju</i>)	Amentia- kranken (<i>Gullotta</i>)
Alloxyproteinsäure	7	—	7
Antoxyproteinsäure	15,1 = 15,99	13,39	12,7
Oxyproteinsäure	11	10,17	10,7

daher die hier erhaltenen Werte jenen der Proteinsäuren wirklich entsprechen; übrigens habe ich eine Bestätigung meiner Daten in ihrer Übereinstimmung mit den von japanischen Autoren ausgerechneten Werten vorgefunden, welche in neuerer Zeit die Bestimmung der einzelnen Proteinsäurefraktionen auf verschiedenen diazoreagierenden Harnen durchgeführt haben. So hat z. B. *Komori* in 50 Litern von Tuberkulose-Krankenharn 67 g Antoxyproteinsäure; *Sendju* im selben Quantum von Typhuskrankenharn 86 g Antoxyproteinsäure vorgefunden: hiermit 1,34 bzw. 1,72 g Antoxyproteinsäure pro Liter, welche Bestimmungswerte

jenen meiner zwei Fälle sehr nahe kommen, denn ¹ den von mir gefundenen Werten von 0,2067 g bzw. 0,1725 g an Antoxyproteinsäurestickstoff entsprechen 1,627 g bzw. 1,354 g an Antoxyproteinsäure pro Liter (s. Tabelle 3).

Tabelle 3. Antoxyproteinsäuregehalt pro Liter Harn
(nach Bondzynskis Verfahren).

Tuberkulosekranke (Komori)	1,34 g
Typhuskranke (Sendju)	1,72 g
Amentiakranke { 1. Untersuchung	1,627 g
2. Untersuchung	1,354 g

Worauf ist diese Zunahme der Antoxyproteinsäuren zurückzuführen? Es heißt in den Handbüchern, daß die Proteinsäure vom endogenen Eiweißstoffabbau wesentlich herstammt und daß sie von der Ernährung unabhängig ist. Vallées Untersuchungen haben festgestellt, daß die Proteinsäure beim Genuß von Fleisch zunimmt, bei Milchdiät und Hunger aber abnimmt: leider stützen sich die Literaturdaten überhaupt auf ungenügende Methoden und bedürfen (wie v. Fürth verlangt) der Bestätigung, da sie vorläufig noch problematisch sind.

Außerdem werden derartige Untersuchungen, sei es, weil unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete noch recht dürftig sind, sei es, weil die Methoden höchst mühselig und zeitraubend sind, von den meisten vermieden und man zieht es vor, dieser dunklen Fraktion, deren Stickstoffgehalt bei den Normalen 2,5 bis 3,6% des Gesamtstickstoffes des Harns (nach v. Fürth) beträgt, jedwede Bedeutung abzusprechen.

Zusammenfassung.

1. Die Bestimmung der nach dem Verfahren von Bondzynski und seinen Mitarbeitern hergestellten und mit v. Fürths Methode erhaltenen Proteinsäure hat bei zwei Amentiafällen eine Vermehrung der Proteinsäure- und besonders der Antoxyproteinsäurefraktion bewiesen.

2. Die letztere Fraktion liefert sämtliche im Harn von Amentia- und Dementia praecox-Kranken beobachteten Reaktionen: nämlich Millon, Ehrlich, Weiß und Hay, ferner Buscainos Reaktion mit kochender Silbernitratlösung.

3. Die letztgenannte Reaktion steht mit der Proteinsäure- und besonders mit der Antoxyproteinsäurefraktion in Zusammenhang.

¹ In der Tat habe ich im Harn meiner zwei Fälle 0,2067 g bzw. 0,1725 g an Stickstoff der Antoxyproteinsäurefraktion pro Liter gefunden. Aus meinen Ergebnissen geht hervor, daß in 100 g Bariumsalz der Antoxyproteinsäure, das Stickstoffprozent 12,7 ausmacht. Das bedeutet, daß, wenn der Stickstoff 0,2067 g beträgt, die Bariumsalze der Antoxyproteinsäure $\frac{0,2067 \times 100}{12,7} = 1,627$ g ergeben.

Meine Versuche aber beweisen nicht, daß die Proteinsäuren die einzige Quelle dieser Reaktion sind.

4. Die gelinde Hydrolyse setzt bei diesen Harnen die p-Cumarsäure einerseits in Freiheit, andererseits zerstört sie die Fraktion der Antoxyproteinsäure. Wahrscheinlich ist die p-Cumarsäure mit der Antoxyproteinsäurefraktion gebunden.

5. Diese Erhebungen liefern noch den Beweis, daß bei Amentia und Dementia praecox mit schwarzer *Buscainoreaktion* Harnsubstanzen reagieren, welche mit der Harnsäure nichts zu tun haben; außerdem daß bei denselben Krankheiten eine abnorme Zerlegung von stickstoffhaltigen Produkten stattfindet, die den Fäulnisprozessen im Darne mit Beeinträchtigung der antitoxischen Leberfunktion, eher als dem Zellenabbau zuzuschreiben ist.

Literaturverzeichnis.

- Bondzynski, S.*: Bull. soc. chim. biol. Paris **7**, 61 (1925). — *Bondzynski, Dombrowski u. Panek*: Z. physiol. Chem. **46**, 83 (1905). — *Brings, L.*: Biochem. Z. **154**, 36 (1924). — *Browinski u. Dombrowski*: Z. physiol. Chem. **77**, 92 (1912). — *Buscaino, V. M.*: Riv. pat. nerv. **27**, 178 (1922); **30**, H. 1 u. 5 (1925), Psychiatr. neur. Wschr. **27**, 29 (1925); **31**, 14 (1929), Studi. neurol. ded. ad *E. Tanzi*, Torino (1926). — *Edlbacher, S.*: Z. physiol. Chem. **89**, 485; **92**, 89 (1914); **96**, 323 (1916); **144**, 279 (1925). — *Fürth, O. v.*: Biochem. Z. **69**, 448 (1915), *Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*. Bd. 4, S. 429. 1925, *Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie*. Bd. 2, S. 106. 1927. — *Giedroye, M. W.*: Bull. soc. chim. biol. Paris **8**, 222 (1926). — *Gullotta, S.*: Boll. soc. biol. sper. **4**, 134 (1929), Biochem. Z. **218**, 472, (1930). — *Harj, P.*: Z. physiol. Chem. **46**, 1 u. 8 (1905). — *Hermanns, L.*: Z. physiol. Chem. **122**, 98 (1922). — *Hermanns u. Sachs*: Z. physiol. Chem. **114**, 79, 88 (1921). — *Kojo, S.*: Z. physiol. Chem. **73**, 416 (1906). — *Komori, Y.*: J. of Biochem. **6**, 297 (1926). — *Neumann, L.*: Z. Neur. (Orig.) **27**, 75 (1915). — *Sassa, R.*: Biochem. Z. **64**, 195 (1914). — *Scheiner, E.*: Riv. pat. nerv. **32**, 544 (1927); **33**, 2 (1928), Biochem. Z. **204**, 361 (1929). — *Sendju, Y.*: J. of Biochem. **7**, 311 (1927).