

Studies on various biochemical problems.

(1926-1936).

By

Regine Kapeller-Adler, D^r phil.



Table of contents.

- 1) On methylguanidine picrate.
- 2) The calcium content of the heart muscle.
- 3) The distribution of nitrogen in muscles of various animals. I.
- 4) The distribution of nitrogen in muscles of various animals. II.
- 5) The occurrence of methylated nitrogen-derivatives in sea-weed. I.
- 6) Fractionation of mixtures of basic compounds by permutite.
- 7) The effect of melting caustic potash upon various organic compounds. On an apparatus for determination of volatile basic compounds.
- 8) The occurrence of methylated nitrogen-derivatives in sea-weed. II. Feeding-experiments with trimethylamine on cold-blooded animals.
- 9) The formation of glycogen in the liver of rats.
- 10) On the alteration of alkylamines in the metabolism and on the occurrence of monomethylamine in the normal urine. I.
- 11) The occurrence of monomethylamine in the urine. II.
- 12) A new reaction for qualitative and quantitative estimation of phenylalanine.
- 13) The influence of nutrition upon the occurrence of ether-soluble acids in the urine.
- 14) A new method for quantitative estimation of carnosine in biological fluids.
- 15) On the synthesis of purines in the body of mammals.
- 16) On compounds extracted from the liver.
- 17) On azoproteins containing arsenic.

REGINE KAPPELLER

Über Methyl-guanidin-Pikrat

★

**SONDERABDRUCK AUS:
BERICHTE DER DEUTSCHEN
CHEMISCHEN GESELLSCHAFT**

**VERLAG CHEMIE G.M.
BERLIN/LEIPZIG B.H.**



260. Regine Kapeller: Über Methyl-guanidin-Pikrat.

[Aus d. Med.-chem. Univers.-Laborat. zu Wien.]

(Eingegangen am 14. Juni 1926.)

Emil Alphonse Werner und James Bell¹⁾ beschreiben eine Darstellung von Methyl-guanidin und β,β -Dimethyl-guanidin durch Einwirkung von Dicyandiamid auf Methylamin-Chlorhydrat und Dimethylamin-Chlorhydrat. Da die Ausbeuten der im hiesigen Laboratorium durchgeführten Synthesen alkylierter Guanidine aus Natriumcyanamid und Alkylamin-Chlorhydraten²⁾ zu wünschen übrig ließen und Methyl-guanidin zu gewissen Versuchen benötigt wurde, versuchte man, das Methyl-guanidin nach dem Verfahren von Werner und Bell darzustellen. Die Reaktion verläuft auch ganz wie es jene Autoren beschrieben haben, man erhält auch entsprechend ihren Angaben ein Pikrat vom Zers.-Pkt. 285°. Dieses Pikrat ist indessen ganz bestimmt nicht das Pikrat des Methyl-guanidins, welches längst bekannt ist³⁾, bei 200° schmilzt und besonders durch das Auftreten zweier verschiedenfarbiger Modifikationen charakterisiert ist. Über diese ist in neuerer Zeit eine lebhafte Diskussion wegen der Frage, ob sie einander stereoisomer sind, entstanden.

Analysen des nach Werner und Bell dargestellten Pikrates ergaben Werte, welche denen eines hypothetischen Pikrates des Dicyandiamids entsprechen.

0.0771 g Sbst.: 0.0871 g CO₂, 0.0262 g H₂O. — 0.1200 g Sbst.: 33 ccm N (17°, 757 mm). — 0.0575 g Sbst.: 15.4 ccm N (23°, 751 mm).

C₈H₇N₇O₇. Ber. C 30.67, H 2.23, N 31.31. Gef. C 30.82, H 3.80, N 32.24, 30.52.

Dieses Pikrat ist trotz der Analyse doch wohl nicht das Dicyandiamid-Pikrat; denn man kann es aus Dicyandiamid und Pikrinsäure nicht erhalten. Der Niederschlag, welcher aus gesättigten Lösungen von Dicyandiamid und Pikrinsäure entsteht, ist ein Gemenge, in welchem bald Dicyandiamid, bald Pikrinsäure vorherrscht, und welches beim Versuch, es aus Wasser oder Pikrinsäure-Lösung umzukristallisieren, in das bereits bekannte Dicyandiamidin-Pikrat übergeht. Jedenfalls ist der Stoff, der nach dem Verfahren von E. A. Werner und J. Bell entsteht, nicht Methyl-guanidin, und sein Pikrat nicht das Methyl-guanidin-Pikrat.

¹⁾ Soc. 121, 1790. ²⁾ A. 442, 130, 447, 286.

³⁾ H. 47, 471; J. 1879, 333; B. 3, 896 [1870]; Journ. biol. Chem. 4, 111; Ar. 247, 470, 479.

B

M. As
Paris,
F. Bo
Berlin
New Y
Berlin
F. Ha
lund -
Berlin
A. J.
Aires,
Lesse
Münci
E. Ma
Tubin
Düsse
W. Os
W. Pa
Bresla
H. Rip
T. Sas
E. Sch
Basel,
zawa,
C. Tig
O. Wa
W. W

Verlagsgesellschaft A. W. Schmidt, Berlin W. 9, Schönebergstrasse 26

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägg-lund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michaelis-Baltimore, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, H. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sharsky-Moskau, A. Schennert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Freiburg i. Br., F. Verzár-Debreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau.

herausgegeben von
C. Neuberg-Berlin

Sonderabdruck aus 193. Band. 4.—6. Heft

R. Kapeller und H. Kutschera-Aichbergen:
Über den Calciumgehalt des Herzmuskels



Berlin
 Verlag von Julius Springer

1928



	Seite
Demianowski, S. Zur Frage nach der Rolle des Tryptophans im tierischen Organismus	245
Feulgen, R., K. Imhäuser und M. Westhues. Zur Physiologie des Plasmalogens. I. Mitteilung: Über die Resorption des Plasmalogens und die Bedingungen für das Zustandekommen der alimentären Plasmalogenämie	251
Schern, Kurt. Über die Störung des Zuckerstoffwechsels bei Trypanosomiasen und Spirochätosen	264
Falkenhausen, M. Frhr. v., H. J. Fuchs und M. Schubert. Über proteolytische Fermente im Serum. IX. Mitteilung: Über das verschiedene Verhalten der Sera in den einzelnen Metamorphosestadien der Anuren	269
Löw, A. und R. Pfeiler. Studien über den Fettstoffwechsel. II.	276
— — Studien über den Fettstoffwechsel. III.	278
Völtz, W. und W. Kirsch. Der Nachweis des antirachitischen Faktors bei Gras, das im Dunkeln auf einer künstlichen Nährlösung gewachsen ist. II.	281
Jendrassik, L. und A. Czike. Zum Chemismus der vegetativen Reizung. Weitere Versuche über die angebliche Rolle von Ionen	285
Virtanen, Artturi I. Über die Einwirkung der Bodenazidität auf das Wachstum und die Zusammensetzung der Leguminosepflanzen	300
Reiner, L. Nochmals: Elektrodialyse oder Elektroosmose. Bemerkungen zu der Arbeit: „Zur physikalisch-chemischen Kennzeichnung von normalem und pathologisch verändertem Blutserum“ von G. Lasch und J. Reitstötter	313
Kumanomido, Susumu. Stoffwechsel embryonaler Gewebe in Serum	315
Ilijn, W. S. Bestimmung des Zuckers mittels Fehlingscher Lösung und Zentrifugierens	322
— Bestimmung von zwei Zuckerarten in einer Lösung	326
Warburg, Otto und Erwin Negelein. Über die Verteilung des Atmungsferments zwischen Kohlenoxyd und Sauerstoff	334
— Über den Einfluß der Wellenlänge auf die Verteilung des Atmungsferments. (Absorptionsspektrum des Atmungsferments.)	339
Krebs, Hans Adolf. Über die Wirkung von Kohlenoxyd und Licht auf Häminkatalysen	347
Fehér, D. Über die Verwendung des Glockenapparates von Lundegardh für die Messung der CO ₂ -Produktion des Waldbodens	350
Maurer, E. und H. Duerue. Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. XII. Mitteilung: Der Jodgehalt im normalen tierischen Organismus	356
— Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. XIII. Mitteilung: Die Beeinflußbarkeit des Jodgehaltes im tierischen Organismus durch perorale Zufuhr geringer Mengen anorganisch gebundenen Jods	360
— Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. XIV. Mitteilung: Die Beeinflussung des Jodblutspiegels durch einmalige Zufuhr anorganisch gebundenen Jods	364
Harpuder, Karl. Untersuchungen über die biologische Bedeutung katalytischer Schwermetallwirkungen. III. Mitteilung über die biologischen Wirkungen des Wiesbadener Thermalwassers	372

Über den Calciumgehalt des Herzmuskels.

Von

R. Kapeller und H. Kutschera-Aichbergen.

(Aus dem medizinisch-chemischen Universitätsinstitut und aus der
I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 3. Februar 1928.)

Die Veranlassung für die folgenden Untersuchungen war eine immer wiederkehrende klinische Beobachtung: Bei chronisch Herzkranken, z. B. bei Herzklappenfehlern, sehen wir oft durch Jahre eine prompte Wirkung der Digitaliskörper. Eingetretene Dekompensationszustände werden durch Digitalis rasch beseitigt, der Puls wird in wenigen Tagen größer und langsamer, die Ödeme werden ausgeschwemmt, die Dyspnoe verschwindet. Bei längerer Krankheitsdauer läßt aber die Wirkung der Digitalis und dann meist auch der anderen Herzmittel immer mehr und mehr nach, und schließlich erweisen sich die bei dem gleichen Kranken früher doch so wirksamen Digitalispräparate sämtlich als völlig wirkungslos, ohne daß etwa eine Komplikation (rezidivierende Endokarditis, Pneumonie, Infarkte oder dergleichen) zur Grundkrankheit hinzugetreten zu sein braucht. Dieses Verhalten ist meist von übler Vorbedeutung, und es kommt bald zum exitus letalis. Wir wissen in solchen Fällen nicht, warum die Digitalis plötzlich nicht mehr wirkt und was die Ursache der unaufhaltsam fortschreitenden Herzschwäche ist. Auch nach dem Tode kann die Erklärung für das zum Tode führende Versagen des Herzens in der Regel nicht gegeben werden, vielleicht, weil folgendes zu wenig berücksichtigt wird: *Das Herz ist nicht nur eine Pumpe, sondern gleichzeitig auch der Antriebsmotor dieser Pumpe ein Motor*, dessen Energie durch sehr komplizierte chemische Umsetzungen erzeugt wird. Die übliche Untersuchung beschränkt sich aber gewöhnlich darauf, nur die Bestandteile vor allem die Ventile der Druckpumpe genauestens zu examinieren und nur die *mechanischen* Schäden im Herzen und in der Peripherie¹ zu regi-

¹ Auszunehmen sind hier *Eppinger, Kisch* und *Schwarz*, welche auch *chemische Schäden in der Peripherie* bei leicht dekompensierten Herzkranken nachgewiesen haben. Es würde zu weit vom vorliegenden Thema ableiten, wenn hier auf diese interessanten Untersuchungen näher eingegangen werden sollte.

strieren; eine Überprüfung der Störungen in der *Energieerzeugung* dagegen unterbleibt. Die morphologische Untersuchung zeigt, daß die mechanischen Beschädigungen der Pumpe sehr verschieden schwer sein können, wenn das Herz versagt, und daß sie manchmal viele Jahre lang ohne nennenswerte Funktionsstörungen bestanden haben, daß also offenbar gewöhnlich nicht mechanische Beschädigungen allein, sondern vor allem Störungen in den die Antriebsenergie liefernden chemischen Umsetzungen, also *zentrale chemische Störungen im Herzmotor*, für das Stillstehen des Herzens ausschlaggebend sind.

Es wird sich also darum handeln, die pathologische Chemie des Myokards, über die wir noch recht wenig wissen¹, etwas näher zu untersuchen. Diesem Gedankengang folgend, bringen wir in der vorliegenden Mitteilung einen Bericht über den Calciumgehalt des menschlichen Herzens. Der Calciumgehalt interessiert in diesem Zusammenhang aus folgenden Gründen:

1. Das Calcium ist für die Funktion des Herzens unbedingt notwendig (*Ringer, O. Löwi u. a.*).

2. Bei der künstlichen Durchspülung gibt der Froschherzmuskel Calcium an die Speisungsflüssigkeit ab (*Böhm, Arima*). Die Größe der Calciumabgabe des Herzmuskels ist von der Calciumkonzentration der Speisungsflüssigkeit *unabhängig* (*Lieb und Löwi*).

3. Die Wirkung der Digitaliskörper ist an die Anwesenheit von Calcium gebunden, sei es, daß Calciumionen dem Herzen mit der Speisungsflüssigkeit zugeführt werden, sei es, daß Calcium aus dem Myokard in die Füllflüssigkeit übertritt (*O. Löwi*).

Hierzu ist noch folgendes zu bemerken: Zu 2. Bei der künstlichen Durchspülung wird der Herzmuskel immer schwächer („hypodynamisch“). Gleichzeitig verliert er immer mehr Calcium. Es ist also daran zu denken, daß der Calciumverlust des Herzmuskels im Experiment mit der zunehmenden Herzmuskelschwäche in irgend einem Zusammenhang stehen könnte. Zu 3. Wenn wir die Frage weiter verfolgen, an welcher Stelle, genau genommen, das Calcium eigentlich „anwesend“ sein müsse, damit die Digitalis ihre Wirkung auf den Herzmuskel entfalten könne, dann ergibt sich, daß das Calcium an einer Stelle anwesend sein muß, die mit der kontraktile Substanz zumindest in Berührung steht. Mannigfache Gründe, die von *Mines, Schelling* und anderen dargelegt worden sind, sprechen dafür, daß diese Stelle die Grenzmembranen der Muskelfasern sind, zu welchen das Calcium

¹ Vgl. *Kutscheras* chemische Myokardbefunde in anatomisch nicht erklärbaren Fällen „schwerster Herzinsuffizienz“.

entweder aus der Speisungsflüssigkeit oder aus den Calciumstapeln des Myokards herangeschafft werden muß.

Vor der Besprechung der eigenen Untersuchungen wollen wir kurz auf die bisher bekannten Daten über den Calciumgehalt normaler und kranker menschlicher und tierischer Herzen eingehen (s. Tabelle I).

Tabelle I.
Literatur über den Calciumgehalt des Herzens.

Autor	Fall	Krankheit	Ca mg-%	Methode
A. Menschenherzen.				
<i>Magnus-Levy</i>	Erwachsener	normal	47	} Makrochemisch
		"	27	
		Verblutung	10	
<i>Moraczewski</i>	"	Anaemia pernic.	30, 40	
		Pneumonie	24, 60	
		Carcinom	100—500	
<i>Dennstedt und Rumpf</i>	"	Nierenkranke	32—118	} <i>Jansen</i>
<i>Stoeltzner</i>	Kinder	Lues, Rachitis	39—75	
B. Tierherzen.				
<i>Gley und Richaud</i>	Hunde	normal	115, 132	} Makrochemisch
<i>Dieselben</i>	Kaninchen	"	45—124	
<i>Aloy</i>	Hunde	"	127—192	
<i>Heubner und Rona</i>	Katzen	"	40—58	} <i>de Waard</i>
<i>Dieselben</i>	"	mit Calcium behandelt	39—96	
<i>Hecht</i>	"	ebenso	22, 29	

Die Werte sind von den Autoren teils auf Calciumoxyd, teils auf Calcium berechnet und beziehen sich in den meisten Fällen auf frische ungetrocknete Substanz. Um die Zahlen untereinander vergleichen zu können, wurden alle Werte auf Calcium und trockene Substanz berechnet und alle Zahlen in Milligrammprozenten angegeben. Der Berechnung auf Trockensubstanz wurde entweder der von den Autoren selbst (*Dennstedt* und *Rumpf*) angegebene Wassergehalt der Herzen zugrunde gelegt oder wenn keine solche Angaben vorlagen, wurde ein Wassergehalt von 80% angenommen.

Über normale menschliche Herzen liegen nur zwei Zahlenangaben in dieser Zusammenstellung vor: *Moraczewski* fand 27 mg-%, *Magnus-Levy* 47 mg-% (makrochemisch). Alle Angaben über den Calciumgehalt der Herzen kranker Menschen schwanken in überraschend weiten Grenzen (10 bis 500 mg-%), ebenso die Angaben über den Calciumgehalt von Tierherzen, soweit dieser Gehalt makrochemisch bestimmt worden ist (45 bis 192 mg-%). Es erscheint nicht sehr wahrscheinlich, daß der Calciumgehalt des Herzens so enorm veränderlich sei (10 bis 500 mg-%). Vielleicht ist diese merkwürdige Variabilität doch eher durch Fehler der Methodik erklärbar.

Wir werden schon dadurch zur Vorsicht in dieser Beziehung gemahnt, daß *Moraczewski* seine auffallend differenten Trockenprozentwerte selbst mit den Worten erklärt, daß sie „gewiß auf Fehler zu beziehen sind“. Und dabei ist doch die Methodik der Wasserbestimmung relativ einfach.

Die mikrochemisch gewonnenen Calciumwerte, welche *Heubner* und *Rona* an Katzenherzen nach der Methode von *Jansen* gewonnen haben, schwanken in engeren Grenzen von 40 bis 96 mg-%. Noch enger sind die Grenzen, in denen die Calciumwerte schwanken, die *Hecht* bei Katzenherzen nach der Methode von *de Waard* gewonnen hat (22 bis 29 mg-%).

Fehlerhafte Bestimmungen können nicht nur durch Mängel der chemisch-analytischen Methode, sondern auch noch durch andere Umstände bedingt sein: Wenn z. B. bei der chemischen Verarbeitung von Herzen die Coronararterien, die bei älteren Personen so häufig viel abgelagerten Kalk enthalten, in die Untersuchung mit einbezogen werden, dann können die an sich ja sehr niedrigen Werte des Muskelkalks durch diesen Depotkalk sehr stark verändert werden.

Eigene Untersuchungen.

Da es darauf ankommt, nur das im Herzmuskelgewebe in feinsten Verteilung enthaltene, mikroskopisch natürlich unsichtbare Calcium zu bestimmen, wurden die zur Untersuchung bestimmten, aus den frischen Herzen herausgeschnittenen Muskelstückchen sorgfältig von Perikard, Teilen der Herzklappen, Sehnenfäden und makroskopisch erkennbaren Ästen der Coronararterien freipräpariert. Von jedem Stückchen wurde eine Probe zur mikroskopischen Kontrolle entnommen, so daß man sich in jedem Falle überzeugen konnte, daß wirklich nur reines, morphologisch normales Muskelgewebe zur Untersuchung gelangte, nicht aber eingesprengtes Fettgewebe, bindegewebige Narbenherde oder Ablagerungen von in groben Teilchen niedergeschlagenem toten Kalk. Die Muskelstückchen wurden fein zerschnitten, nach mehrstündiger Vortrocknung pulverisiert und dann bei 90° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Eingewogene Mengen von diesem Muskelpulver wurden der Calciumbestimmung nach der Methode von *de Waard* zugeführt. Aus Gründen der Objektivität wurde die Arbeit unter die beiden Verfasser derart verteilt, daß der eine die Organpulver herstellte, während der andere die Calciumbestimmungen vornahm, ohne die klinischen und anatomischen Daten der Fälle zu kennen.

Jansen verascht die Organsubstanz und befreit die Asche von Eisen und Phosphorsäure; er fällt dann das Calcium als Oxalat und glüht es zu Calciumoxyd. Letzteres wird dann mit einer gemessenen Menge Säure versetzt und der Überschuß derselben azidi- oder jodometrisch bestimmt. Das Verfahren beansprucht nach *Hecht* viel Zeit und gibt zu hohe Werte. Nach den Erfahrungen, die im Institut für medizinische Chemie gemacht worden sind, wurde das Verfahren von *de Waard* dem von *Jansen* vorgezogen (vgl. auch *Hechts* Angaben darüber).

Die Methode von *de Waard* beruht darauf, daß die Analysensubstanz mit Salzsäure verascht wird und die salzsaure Aschelösung in vom Autor beschriebenen Zentrifugieröhrchen mit einer gesättigten Ammonoxalat-

Da die angewandten Büretten in Hundertstel Kubikzentimeter geteilt sind, können solche und auch die Hälfte davon noch genau abgelesen werden.

Es ist selbstverständlich, daß größere Einwagen eine größere Genauigkeit ermöglichen. Wo die Einwage wesentlich unter einem halben Gramm war, liegt es daran, daß zur Untersuchung aus dem sehr dünnen rechten Ventrikel des menschlichen Herzens immer nur wenige Gramm der Trockensubstanz zur Verfügung standen, an welchen außer den Ca-Bestimmungen noch andere Untersuchungen ausgeführt wurden.

Tabelle II.

Trockensubstanz g	Anzahl der verbrauchten ccm 0,0101 n K Mn O ₄	Ca mg-%	Herzmuskel	Fall	
0,5482	0,70	25,54	rechts	} Stier I	
0,5199	0,65	25,01	links		
0,5375	0,68	25,30	} rechts	} Stier II	
0,6558	0,82	25,01			
0,6577	0,83	25,24	} links		
0,5985	0,77	25,74			
0,4795	0,615	25,86	rechts	} Kuh I	
0,4663	0,60	25,73	links		
0,5170	0,65	25,15	rechts	} Kuh II	
0,5026	0,63	25,07	links		
0,3172	0,40	25,22	} rechts	} 1. Normalfall	
0,2716	0,34	25,04			
0,3627	0,46	25,36			
0,5097	0,65	25,51			
0,3770	0,48	25,46			} links
1,2998	1,61	25,03			
0,3419	0,44	25,74	rechts	} 2. Sepsis	
0,3052	0,39	25,56	links		
0,3112	0,395	25,64	} links	} 3. Aortenlues	
0,5044	0,64	25,38			
0,4855	0,65	26,78	} rechts	} 4. Schrumpfniere	
0,5687	0,77	27,08			
0,4824	0,545	22,84			
0,4188	0,475	22,86	links		
0,2742	0,28	20,43	} rechts	} 5. Mitralstenose	
0,2134	0,215	20,34			
0,4401	0,45	20,45			
0,2919	0,295	20,42	} links		
0,3315	0,345	21,05			
1,2428	1,22	19,84			
0,8353	0,83	20,06	} rechts	} 6. Mitralstenose	
0,2841	0,285	20,27			
0,3459	0,35	20,23			
0,3018	0,33	21,87			
0,4446	0,47	21,14			
0,4112	0,445	21,88			} links
1,3282	1,39	21,14			

Klinische und pathologisch-anatomische Daten.

Fall 1. Mann, 21 Jahre. Selbstmord durch Durchschneiden beider Halsschlagadern und der Trachea. Die Obduktion¹ ergibt sonst einen völlig normalen Organbefund. Todesursache: Verblutung.

Fall 2. Mann, 68 Jahre. Chronische *Sepsis*, *Aleukie*, *Anämie*, hohes Fieber². Bei der Obduktion finden sich Ulzerationen beider Stimmbänder, phlegmonöse Infiltration der Nasenschleimhaut mit partieller Sesqustration der rechten unteren und mittleren Muschel, Lobulärpneumonie beiderseits, das Herz schlaff, sonst ohne Besonderheit.

Fall 3. Mann, 53 Jahre. *Aortis luetica*. Seit 2 Jahren allmählich zunehmende kardiale Dekompensation, immer mehr zunehmende Ödeme und Dyspnoe, Herzmittel in den letzten Monaten wirkungslos, agonal auch Lungenödem. Autopsie: starke Erweiterung der Aorta, leichte Insuffizienz der Aortenklappen, beträchtliche Hypertrophie des linken Herzens, der rechte Ventrikel mehr dilatiert als der linke. Im Herzen finden sich mikroskopisch an manchen Stellen kleinste Fibroseherdchen, zuweilen auch geringe Anhäufungen von Lymphocyten. Viele hypertrophische Fasern mit großen Kernen.

Fall 4. Frau, 38 Jahre. *Vasculäre Schrumpfniere*. Blutdruck 200 bis 240 mm R. R., wiederholt Anfälle von Lungenödem, die durch Morphium beseitigt werden. Perikarditis urämica, Rest-N 98, zuletzt eklamptischer Anfall, Bewußtlosigkeit, Patientin fast pulslos, exitus 24 Stunden später. Autopsie: Arteriosklerose der Nieren auf dem Boden chronischer Pyelonephritis, konzentrische beträchtliche Hypertrophie des Herzens, besonders des linken Ventrikels, Perikarditis fibrinosa, Lungenödem. Nur geringe Stauung vor dem rechten Herzen, d. h. im großen Kreislauf. Histologisch das Myokard ohne Besonderheit.

In diesem Falle hatte der linke Ventrikel gegen den im großen Kreislauf erhöhten Blutdruck eine vermehrte Arbeit zu leisten, die er schließlich nicht mehr bewältigen konnte; es bot sich das Bild der *Linksinsuffizienz* bei noch kräftigem rechten Herzen.

Fall 5. Frau, 46 Jahre. *Mitralstenose* und *Insuffizienz*, *chronische Sepsis*. Embolische Nephritis, zeitweise Fieber bis 39°. Trotz aller angewandten Cardiaca unaufhaltsam zunehmende kardiale Dekompensation: Dyspnoe, geringere Stauung im kleinen, stärkere Stauung im großen Kreislauf. Autopsie: Knopflochstenose der Mitralis mit jüngeren thrombotischen Auflagerungen, beide Herzkammern sehr dilatiert, aber wenig hypertroph, sehr weiter linker Vorhof, braun indurierte, aber trockene Lungen, dagegen Ascites, Hydrothorax, Ödeme. Embolische Nephritis.

Demnach ist wohl nicht die mechanische Behinderung des Kreislaufes durch die Mitralstenose die unmittelbare Todesursache, sondern die Schwäche beider Herzkammern bei Vitium + Sepsis.

¹ Sämtliche Obduktionen wurden im pathologisch-anatomischen Universitätsinstitut vorgenommen. Herrn Prof. Maresch sind wir für die Überlassung des Materials zu besonderem Danke verpflichtet.

² Aus den Krankengeschichten und den ausführlichen Obduktionsbefunden wird nur das, was für das Verständnis des folgenden notwendig ist, in möglichster Kürze hervorgehoben.

Histologisch finden sich in beiden Herzkammern viele auffallend helle, mit Eosin weniger färbbare Muskelfasern, sowie Spuren feintropfiger Fettablagerung in den Muskelfasern, rechts außerdem eine ganz geringfügige (nur mikroskopisch nachweisbar!) Fettdurchwachsung. Die Wand des linken Vorhofes ist 2 mm dick.

Fall 6. Mann, 36 Jahre. *Mitralstenose.* Seit 8 Jahren wiederholt Herzbeschwerden, 5 Tage vor dem Tode wesentliche Verschlechterung, andauernde größte Atemnot, sehr große Leber, Hydrothorax, Cyanose, Blutdruck nur 80 bis 90 R. R. Herzmittel wirkungslos. Autopsie: Knopflochstenose der Mitralis, hochgradige Stauung im großen Kreislauf, aber trockene Lungen, der rechte Vorhof noch weiter als der dilatierte linke Vorhof.

Demnach ist auch hier nicht die mechanische Behinderung des Kreislaufes durch die Knopflochstenose die unmittelbare Todesursache (keine Anstauung vor dem mechanischen Hindernis!), sondern die Erschöpfung des rechten Ventrikels, der gegen den erhöhten Druck im kleinen Kreislauf anzukämpfen hatte.

Histologischer Befund: Ziemlich dichte, feintropfige Fettablagerung in den Muskelfasern, links ebenso wie rechts, links deutlich mehr Lipomelanin wie rechts, die Wand des linken Vorhofes ist 4 bis 7 mm dick.

Besprechung der Ergebnisse.

1. *In vier gesunden Rinderherzen wurde ebenso wie in den Herzen eines normalen erwachsenen Mannes in vielen Parallelbestimmungen immer wieder ein Wert von 25 bis 25,7 mg-% Calcium gefunden. Dieser Wert scheint also im normalen Herzen des Menschen und des Rindes ein konstanter zu sein.* Er ist der gleiche wie der von G. Hecht im Katzenherzen gefundene Mittelwert von 25,5 mg-%. Zwischen der rechten und linken Herzkammer besteht beim Gesunden kein Unterschied. Hecht ist der einzige Untersucher, der die gleiche Methode der Calciumbestimmung verwandte wie wir.

2. In einem Falle von chronischer Sepsis und in einem Falle von Aortitis luetica finden sich normale Calciumwerte im Myokard¹.

3. Bei einem Falle von *Linksinsuffizienz* des Herzens findet sich eine Verminderung des Calciumgehaltes in der *linken, also gerade in der insuffizienten Herzhälfte, die rechte Herzhälfte dagegen weist hier eher einen leicht vermehrten Calciumgehalt auf.*

4. In zwei Fällen von Herzklappenfehlern, bei welchen schließlich alle Herzmittel versagt hatten, sind in beiden Herzkammern die Calciumwerte beträchtlich erniedrigt, im Falle 6 *besonders in der mehr überanstrengten rechten Kammer.*

¹ Diese Fälle sind zum Unterschied von den Normalfällen nicht durch Verbluten zugrunde gegangen. Der Blutgehalt des Herzmuskels ist nach dem Tode sehr gering, wie die mikroskopische Untersuchung zeigt. Er scheint bei solchen quantitativen Bestimmungen ohne Belang zu sein.

5. Der Calciumgehalt ist anscheinend nicht von dem Lipoidgehalt¹ des Herzmuskels abhängig. Es würde zu unrichtigen Vorstellungen führen, wenn man etwa den Calciumgehalt auf die fettfreie Trockensubstanz berechnen wollte, denn der mit wasserfreiem Äther aus dem getrockneten Herzpulver gewonnene Extrakt enthält *Calcium*.

Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen scheint es wahrscheinlich, daß dieses Calcium an Lipoid gebunden ist. *Channon* und *Chibnall* haben aus dem Ätherextrakt von Kohlblättern zwei Calciumphosphatidverbindungen rein darstellen können. In den mit Äther extrahierten Phosphatidfraktionen von tierischem Material wurde schon wiederholt Calcium nachgewiesen, so von *Thudichum*, *Diaconow*, *Parnas*, *Wadsworth* und *Maltaner* (zitiert nach *Channon* und *Chibnall*).

6. Die Grundfrage, von der ausgegangen wurde, ob der Calciumgehalt des Myokards bei Herzinsuffizienz verändert sei, läßt sich nun folgendermaßen beantworten: In manchen, aber nicht in allen (Fall 2 und 3) Fällen von *Herzinsuffizienz* ist der Calciumgehalt des Herzmuskels vermindert. Besonders auffallend ist es, daß diese Abnahme des Calciumgehalts zuweilen nicht das ganze Herz gleichmäßig betrifft, sondern daß der Calciumverlust in den am meisten überanstrengten Abschnitten des Herzens am deutlichsten ausgeprägt ist.

Literatur.

- Aloy*, zit. nach *Gley* und *Richaud*. — *Arima*, Pflügers Arch. 157, 531, 1914. — *Böhm*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 75, 230, 1913. — *Channon* und *Chibnall*, The bioch. Journ. 21, 225, 233, 1112, 1927. — *Dennstedt* und *Rumpf*, Münch. med. Wochenschr. 9, 393, 1905. — *de Waard*, diese Zeitschr. 97, 176, 1919. — *Eppinger*, *Kisch* und *Schwarz*, Das Versagen des Kreislaufs, 1927. — *Hecht*, diese Zeitschr. 143, 342, 1923; 144, 270, 1924. — *Gley* und *Richaud*, Journ. de Phys. et de Path. 12, 673, 1910. — *Heubner* und *Rona*, diese Zeitschr. 135, 248, 1923. — *Jansen*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 176, 1918. — *Kutschera-Aichbergen*, Verhandl. d. D. Pathol. Ges. 20, 133, 1925. — *Lieb* und *O. Löwi*, Pflügers Arch. 173, 152, 1919. — *O. Löwi*, Münch. Med. Wochenschr. 1917, S. 1003; Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 83, 366, 1918. — *Magnus Levy*, diese Zeitschr. 24, 363, 1910. — *Mines*, Journ. of physiol. 43, 467, 1912. — *Moraczewski*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 483, 1897. — *Ringer*, Journ. of phys. 18, 425, 1895. — *Schellong*, Deutsch. med. Wochenschr. 1926, S. 862. — *Stoeltzner*, Jahrb. f. Kinderheilk. u. phys. Erz. 50, 268, 1899.

¹ Auf die chemischen und mikroskopischen Lipoidbefunde im Myokard wird in einer späteren Mitteilung näher eingegangen werden.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Seite

Harpuder, Karl. Über den Einfluß von Ferro- und Manganionen auf Fermente. IV. Mitteilung: Über die biologischen Wirkungen des Wiesbadener Thermalwassers	380
Fellenberg, Th. v. Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur. XII. Mitteilung: Zur Geochemie des Jods. III. Der atmosphäre Charakter des Jods	384
Ettisch, G. und R. Koganei. Über die Oberflächenspannung von wässrigen Lösungen hochmolekularer Salze. (Kurzer Bericht) . .	390
Simon, A. und J. Szelöczey. Untersuchungen über Kalium- und Calciumgehalt der peripheren Nervenfasern	393
Kapeller, R. und H. Kutschera-Aichbergen. Über den Calciumgehalt des Herzmuskels	400
Stappuhn, O. und J. Nolle. Fermentative Prozesse als Ursache der Gottliebischen Entgiftung herzverankerter Digitalissubstanzen .	409
Imhäuser, K. Zur Physiologie des Plasmalogens. II. Mitteilung: Über das Verhalten des Plasmalogens im Serum von Neugeborenen . .	416
Poullsson, Leif T. Über die mikrokolorimetrische Natriumbestimmung	423
Ottenssooser, F. und E. Strauss. Immunochemische Untersuchungen über Globin und Globinderivate	426
Neuberg, Carl und Maria Kobel. Zur Frage des Nachweises von Methylglyoxal als Zwischenprodukt der Glykolyse	464
Autorenverzeichnis	468

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Soeben erschien:

Stoffwechsel und Energiewechsel

Von

Dr. H. W. Knipping und Dr. Peter Rona

Privatdozent an der Medizinischen Klinik
der Universität Hamburg

Professor an der Universität
Berlin

(Praktikum der physiologischen Chemie
von Peter Rona-Berlin, dritter Teil)

Mit 107 Textabbildungen. VI, 268 Seiten. 1928. RM 15.-

Inhaltsübersicht:

A. Die Nahrungsmitteluntersuchung. I. Allgemeines zur Analyse und Kalorimetrie von Nahrungsmitteln. II. Die Kalorimetrie der Nahrungsmittel. III. Quantitative Nahrungsmittelanalyse. B. Stoffwechsel. I. Allgemeines. II. Der Gesamtstoffwechsel III. Die Stickstoffbilanz. IV. Die Wasserbilanz. V. Ausnutzungsversuche. VI. Stoffwechseluntersuchungen an Gruppen und Generationen von Tieren. VII. Analyse von ganzen Tieren bei der Untersuchung des Gesamtstoffwechsels (Ansatzversuche). C. Der Energiewechsel. I. Allgemeines. II. Der Grundumsatz. III. Direkte Kalorimetrie. IV. Die indirekte Bestimmung des Kalorienumsatzes (Gasstoffwechseluntersuchung). D. Bestimmung des Gasstoffwechsels von Zellen, Geweben, Bakterien, und kleinsten Tieren. E. Der Arbeitsumsatz unter besonderer Berücksichtigung der Sportuntersuchungen.

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Beilsteins Handbuch der organischen Chemie

Vierte Auflage

Die Literatur bis 1. Januar 1910 umfassend

Herausgegeben von der

Deutschen Chemischen Gesellschaft

Bearbeitet von

**Bernhard Prager. Paul Jacobsohn †
Paul Schmidt und Dora Stern**

Vor kurzem erschienen:

Zehnter Band:

Isocyclische Oxy-Carbonsäuren und Oxo-Carbonsäuren

XII, 1124 Seiten. 1927. Gebunden RM 164.—

Die bisher erschienenen Bände:

Erster Band: Leitsätze für die systematische Anordnung. Acyclische Kohlenwasserstoffe, Oxy- und Oxo-Verbindungen. XXXV, 983 Seiten. 1918. geb. RM 128.—

Zweiter Band: Acyclische Monocarbonsäuren und Polycarbonsäuren. VIII, 920 Seiten. 1920. geb. RM 116.—

Dritter Band: Acyclische Oxy-Carbonsäuren und Oxo-Carbonsäuren. X, 938 Seiten. 1921. geb. RM 118.—

Vierter Band: Acyclische Sulfinsäuren und Sulfonsäuren. Acyclische Amine, Hydroxylamine, Hydrazine und weitere Verbindungen mit Stickstoff-Funktionen. Acyclische C-Phosphor-, C-Arsen-, C-Antimon-, C-Wismut-, C-Silicium-Verbindungen und metallorganische Verbindungen. XVI, 734 Seiten. 1922. geb. RM 94.—

Fünfter Band: Cyclische Kohlenwasserstoffe. VI, 796 Seiten. 1922. geb. RM 100.—

Sechster Band: Isocyclische Oxy-Verbindungen. X, 1285 Seiten. 1923. geb. RM 102.—

Siebenter Band: Isocyclische Monooxo-Verbindungen und Polyoxy-Verbindungen. VIII, 955 Seiten. 1925. geb. RM 128.—

Achter Band: Isocyclische Oxy-Oxo-Verbindungen. VIII, 616 Seiten. 1925. geb. RM 80.—

Neunter Band: Isocyclische Monocarbonsäuren und Polycarbonsäuren. XI, 1063 Seiten. 1926. geb. RM 160.—

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H.v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Düsseldorf, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Wien, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karbalsd, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-Baltimore, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Berlin, F. Verzár-Debreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Sonderabdruck aus 221. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Julie Krael:

Untersuchungen über die Stickstoffverteilung
in den Muskeln verschiedener Tierklassen. I.



Berlin

Verlag von Julius Springer

1930



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *M* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

221. Band	Inhaltsverzeichnis	4.—6. Heft
		Seite
Krogh, August. Eine Mikromethode für die organische Verbrennungsanalyse, besonders von gelösten Substanzen		247
Koplowitz, E. Zur Bestimmung des Kreatinins und des Kreatins in kleinen Blutmengen		264
Benni, Bertil. Der Citronensäuregehalt im Liquor cerebrosppinalis . .		270
Charmandarjan, M. O. und A. B. Tjutjunnikowa. Einfluß von Salzen auf die Tätigkeit der Malzkatalase. IV.		273
Anderson, John Arthur. Elektrolytische Methode zur Trennung von α -Aminosäuren in Eiweißhydrolysaten		284
Bickel, A. und I. A. Collazo. Wirkungen eines Hefekonzentrationsproduktes nach parenteraler und enteraler Gabe auf den Kohlehydratstoffwechsel.		295
Ssadikow, W. S. und E. A. Poschiltzowa. Isolierung eines Cyclotripeptids aus Casein.		304
Spranger, Walter. Permeabilitätsstudien. II.		315
Jantzen, Ernst und Hans Schmalfuss. Schnellverdampfung. (Bemerkungen zu der gleichnamigen Mitteilung von Hans Norbert Naumann.)		328

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite. *

Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in den Muskeln verschiedener Tierklassen. I.

Von

Regine Kapeller-Adler und Julie Krael.

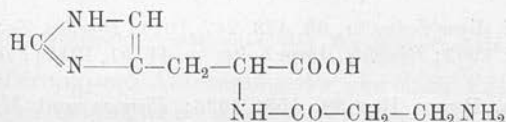
(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 2. April 1930.)

Das physiologisch hochwertige Problem, die chemische Natur der Extraktivstoffe des Muskels zu klären, ist seit langem das Ziel zahlreicher eingehender Untersuchungen verschiedener Forscher.

Zu den wichtigsten stickstoffhaltigen Bestandteilen des Säugetiermuskels zählen wir zur Zeit das *Kreatin*, dem sich im vorgebildeten Muskel verhältnismäßig sehr geringe Mengen seines Anhydrids, des *Kreatinins*, beigesellen, das *Carnosin*, das *Carnitin*, das *Methylguanidin* und die Purinbasen.

Das Dipeptid *Carnosin*, das β -Alanylhistidin, dessen Konstitution



von *Barger*¹ festgelegt wurde, wurde von *Gulewitsch*² unter den Muskelextraktivstoffen entdeckt und erwies sich als identisch mit dem von *Kutscher*³ aus Fleischextrakt isolierten Ignotin. Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in Muskelextrakten ergaben, daß in der Skelettmuskulatur des Pferdes etwa ein Drittel des Extraktivstoffes auf Kreatin und Kreatinin, ein weiteres Drittel auf die Carnosinfraktion entfällt, während alle anderen Bestandteile insgesamt nur das letzte Drittel ausmachen⁴.

¹ Biochem. Journ. 12, 1918.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 565, 1900.

³ Centralbl. f. Physiol. 19, 504, 1905.

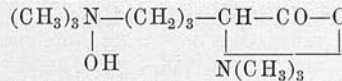
⁴ O. Fürth und C. Schwarz, diese Zeitschr. 30, 248, 1910.

Die Menge der *Purinkörper*¹, welche früher als die wesentlichsten Bestandteile des Fleischextraktes angesehen wurden, stellt lediglich einen geringen Bruchteil der Muskelextraktivstoffe dar. Übrigens ist in der letzten Zeit der Purinstoffwechsel des Muskels wieder in den Vordergrund getreten und steht im Mittelpunkt allgemeinen Interesses².

Das von *Gulewitsch* und *Krimberg*³ isolierte *Carnitin* zeigte sich identisch mit dem von *Kutscher*⁴ beschriebenen Novain. Die Strukturformel des Carnitins war bis jetzt strittig; neuerdings wird dem Carnitin von *Linneweh*⁵

wieder die ältere Formel $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{CH}_2-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CO}$ zugeschrieben.

Im Pferde- und Hundemuskel soll eine dem Ornithinbetain isomere Base



das *Myokynin*⁶, in äußerst geringer Menge vorkommen. Aus 30 kg frischem Pferdefleisch wurden 3 g Platinsalz $\text{C}_{11}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_2\text{PtCl}_6 + \text{H}_2\text{O}$ isoliert. Das Myokynin wird auch im menschlichen Muskel vermutet⁷.

In Fleischextrakten ist man wiederholt auch dem *Methylguanidin*⁸,

$\begin{array}{l} \text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NH} \\ \diagdown \\ \text{NHCH}_3 \end{array}$, begegnet, dessen präformiertes Vorkommen im Muskelgewebe

bis vor kurzem sehr in Zweifel gezogen wurde. Auf Grund der Beobachtung verschiedener Forscher, daß das Kreatin sowohl durch barytalkalische Silbernitratlösung, welches Reagens zur Isolierung des Methylguanidins nach *Kossel* und *Kutscher*⁹ dient, als auch durch das Reagens des *Engelandschen*¹⁰ Verfahrens, durch das Quecksilberacetat, unter Abspaltung von Methylguanidin oxydiert werde, gelangte man zu der Ansicht, das aus Fleischextrakten dargestellte Methylguanidin könne nur als ein bei der Aufarbeitung künstlich entstandenes Produkt¹¹ aufgefaßt werden. Erst durch die letzten Untersuchungen von *Komarow*¹² erscheint das vorgebildete

¹ *Scaffidi*, diese Zeitschr. **33**, 473, 247, 1911; *Burian*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **38**, 392, 1903; *Rinaldi*, diese Zeitschr. **41**, 51, 1912; *Fürth* und *Schwarz*, l. c.

² *Emden*, *Ronas* Ber. **38**, 158, 1926; *Parnas* und *Mozolowski*, ebendasselbst **42**, 561, 1927; *Parnas*, diese Zeitschr. **206**, 16, 1929.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. **45**, 326, 1905.

⁴ Ebendasselbst **49**, 484, 1906; **50**, 250, 1906.

⁵ Ebendasselbst **181**, 42, 1929.

⁶ Zeitschr. f. Biol. **59**, 433, 1913; **61**, 373, 1913.

⁷ *Engeland*, Ber. **54**, 2208, 1921.

⁸ *Smorodinzew*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 212, 1914; *A. Suwa*, Centralbl. f. Physiol. **22**, 307, 1908.

⁹ Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 165, 1900.

¹⁰ Ebendasselbst **57**, 55, 1908.

¹¹ *Ewins*, Biochem. Journ. **10**, 103, 1916; *Baumann* und *Ingvaldsen*, Journ. of biol. Chem. **35**, 277, 1918; *Greenwald*, Journ. Amer. Chem. Soc. **41**, 1109, 1919.

¹² Diese Zeitschr. **211**, 326, 1929.

Vorko-
sprech-
stellun-
fassun-

F.
Argini-
S.
mengen-
nehme-
Harnst-
In

Aus d

Betain

Cholin

In

geword

verw

von W

Das A

zusam

nicht r

W

betriff

allen

1

Chem.

2

ges. Ph

3

4

5

6

7

8

9

Bioel

Vorkommen des Methylguanidins im Muskel sichergestellt. Übrigens sprechen auch eigene, weiter unten zu erwähnende diesbezügliche Feststellungen sowie noch zu veröffentlichende Untersuchungen für die Auffassung des Methylguanidins als nativen Muskelbestandteil.

Ferner wurden im Muskel kleine Mengen freier *Aminosäuren*¹, wie Arginin, Histidin, Lysin, Alanin und Glutaminsäure, gefunden.

Schließlich begegnet man in den Muskeln regelmäßig kleinen *Harnstoffmengen*². Eine Ausnahmestellung hinsichtlich ihres Muskelstoffwechsels nehmen die Selachier³, welche sich durch einen außerordentlich großen Harnstoffreichtum auszeichnen, ein.

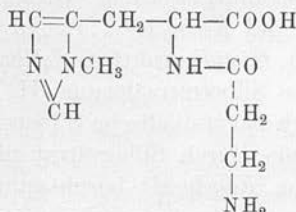
Im Fischmuskel wurde *Betain*⁴ $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}$ nachgewiesen.

Aus dem Gewebe von Regenwürmern glauben *Ackermann* und *Kutscher*⁵ *Betain* und *Cholin* $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ isoliert zu haben. Das



Cholin kommt in Spuren auch in den Skelettmuskeln⁶ vor.

In letzter Zeit ist ein neuer Bestandteil der Vogelmuskulatur bekanntgeworden⁷. Es handelt sich um das *Anserin*, einen dem Carnosin nahe verwandten Stoff, dessen Konstitutionsformel



von *W. Keil*⁸ durch verschiedene Abbaureaktionen festgelegt werden konnte. Das Anserin wurde nebenbei auch im Muskel von Reptilien, mitunter zusammen mit Carnosin, angetroffen⁹. Dagegen konnte es im Rindsmuskel nicht nachgewiesen werden.

Bisher geübte Isolierungsmethoden der Muskelextraktivstoffe.

Was die Isolierung und Abtrennung der einzelnen Extraktivstoffe betrifft, so gibt es mannigfache darauf gerichtete Verfahren, denen allen die Extraktion der Muskelbestandteile durch Auskochen des

¹ *Soave*, *Accad. Torino* **40**, 831, 1905; *Micko*, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **56**, 180, 1908.

² *Haycraft*, *Journ. of anat. Phys.* **13**, 129, 1884; *Schöndorff*, *Arch. f. d. ges. Phys.* **74**, 307, 1899.

³ *Schröder*, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **14**, 576, 1890.

⁴ *Suwa*, *Arch. f. d. ges. Phys.* **128**, 421, 1909; **129**, 231, 1909.

⁵ *Zeitschr. f. Biol.* **75**, 315, 1922.

⁶ *Reid Hunt*, *Journ. pharm. Therap.* **7**, 301, 1915.

⁷ *Ackermann*, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **183**, 1, 1929.

⁸ *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **187**, 1, 1930.

⁹ *F. A. Hoppe-Seyler*, ebendasselbst **184**, 276, 1929.

Muskels mit *Wasser* gemeinsam ist. Im allgemeinen werden sodann die gewonnenen wässerigen Auszüge einer Enteiweißung durch eine der üblichen Methoden unterworfen, und zwar wird der größte Teil der gelösten Proteine durch *Hitzekoagulation* bei schwach saurer Reaktion entfernt; der noch in Lösung verbliebenen komplexen Proteinsubstanzen (Albuminate) entledigt man sich meist durch Ausfällen mit einer wässerigen *Tanninlösung*. Weiter wird an den wässerigen Auszügen eine Reinigung durch Fällen mit konzentrierter *Bleiacetatlösung* vorgenommen und das überschüssige Bleiacetat mit Schwefelwasserstoff eliminiert.

Nach diesen Voroperationen wird erst die Isolierung der einzelnen Extraktivstoffe vorgenommen. Zunächst erfolgt nach *Drechsel*¹ eine Fällung mit *Phosphorwolframsäure*, wobei dann die erhaltenen Phosphorwolframate entweder durch Baryt oder durch Salzsäure und ein Gemisch von Amylalkohol und Äther zerlegt werden. Die gewonnene Basenlösung wird mit Silbernitrat niedergeschlagen, wodurch die Purinkörper als Silberverbindungen ausfallen. Zur Trennung der im Filtrat des Silberniederschlages befindlichen Extraktivstoffe sind verschiedene Methoden bekanntgeworden. Grundlegend für alle ist das Verfahren von *Kossel* und *Kutscher*². Dieses teilt die Basen in drei Fraktionen: I. in die *Histidinfraktion*, fällbar durch eine neutrale oder schwach alkalische Silbernitratlösung, II. in die *Argininfraktion*, fällbar durch eine stark barytalkalische Silbernitratlösung, und III. in die *Lysinfraktion*, welche durch Silbernitrat nicht gefällt wird.

Das Verfahren von *Engeland*³ beruht auf einer Ausfällung der Basen in Form ihrer *Quecksilberdoppelsalze* mittels eines Gemenges von Sublimat und Natriumacetat. Die gewonnenen Doppelsalze werden zerlegt, mit Methylalkohol extrahiert und mittels einer Sublimat- oder Cadmiumchloridlösung und durch Herstellung von Platin- und Gold-doppelsalzen voneinander getrennt.

Außer diesen allgemeinen Verfahren gibt es noch eine Anzahl anderer, einfacherer Methoden, welche die Isolierung bestimmter Extraktivstoffe zum Zwecke haben.

Die erwähnten Verfahren sind mit verschiedenen Mängeln behaftet. Das stundenlange Auskochen mit Wasser führt dazu, daß eine größere Menge von kolloiden Stoffen in den übrigen schwer filtrierbaren Auszug hineingeht und die weiteren Operationen erschwert. Die Reinigung mit Bleiacetat führt zu namhaften Verlusten an Extraktivstoffen, der Bleiniederschlag absorbiert nämlich selbst große Mengen von Stoffen, die nur schwer auswaschbar sind, und dieselbe adsorptive Eigenschaft besitzt auch das Bleisulfid. Weitere Verluste werden bedingt durch die Ausfällung der Albuminate.

¹ Ber. 28, 3189, 1895.

² l. c.

³ l. c.

E
ist vo
extral
und z
Quan
in hol

Neu

V

haltig
weiter
vorlie
geübt
ersetzt
so die
und c
zu kö

Z

sorgfä
getriel
3 bis
dreim
im V
starke
volum
wurde
starke
die so
Lösun
filtrier
sorgfä
mit h
müsse
Abdar
aufger
Ausscl
und p
schild

W

weise
der ei

Eine elegantere Methode zur Herstellung von Muskelextrakten ist von *Krimberg* und *Komarow*¹ angegeben worden. Diese Autoren extrahieren die zerkleinerten Muskeln dreimal mit Wasser bei 70 bis 85°, und zwar nur 30 Minuten lang. Dadurch vermeiden sie, daß größere Quantitäten kolloider Stoffe, welche die Ausbeute an Extraktivstoffen in hohem Maße vermindern, in den Auszug übergehen.

Neues Verfahren zur Ermittlung der Stickstoffverteilung im Muskel.

Von der bekannten Tatsache ausgehend, daß die meisten stickstoffhaltigen Muskelextraktivstoffe in starkem Alkohol löslich sind, daß weiter Alkohol ein gutes Enteiweißungsmittel darstellt, sollte in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen werden, die bisher geübte wässrige Extraktion des Muskels durch eine alkoholische zu ersetzen. Dieser Weg schien besonders verlockend und wir hofften, so die langwierige Herstellung wässriger, schwer filtrierbarer Extrakte und deren mühsame Enteiweißung und Reinigung bequem umgehen zu können.

Zum Zwecke der Herstellung eines alkoholischen Auszuges wurden sorgfältig von Sehnen befreite Muskeln durch eine Fleischhackmaschine getrieben und mit dem zwei- bis dreifachen Volumen 96 %igen Alkohols 3 bis 4 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden im Vakuum von Alkohol befreit und der erhaltene Rückstand mit starkem Alkohol über Nacht im Eiskasten stehen gelassen, wobei eine voluminöse Fällung von Eiweißspaltungsprodukten erfolgte. Das Filtrat wurde nochmals im Vakuum eingeengt, der Rückstand abermals mit starkem Alkohol gefällt und diese Operation so lange fortgesetzt, bis die schließlich resultierende, bei vermindertem Druck eingeengte Lösung mit absolutem Alkohol nicht mehr ausfiel. Die jeweilig abfiltrierten Niederschläge wurden selbstverständlich immer mit Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Da in den alkoholischen Auszug Phosphatide mit hineingehen und diese, weil störend, unbedingt entfernt werden müssen, wurde der schließlich eiweißfreie, alkoholische Extrakt durch Abdampfen völlig von Alkohol befreit, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und die Gesamtmenge der Phosphatide durch öfteres Ausschütteln mit Äther eliminiert. So resultierte eine wässrige, eiweiß- und phosphatidfreie Flüssigkeit, die das Ausgangsmaterial der zu schildernden Untersuchungen bildete.

Während die in der Literatur vielfach angeführten und oben teilweise zitierten Extraktionsmethoden hauptsächlich für die Isolierung der einzelnen stickstoffhaltigen Muskelbestandteile dienstbar gemacht

¹ Diese Zeitschr. 171, 171, 1926.

wurden, soll an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß mit der Anwendung der alkoholischen Extraktion weniger die Reindarstellung der einzelnen Muskelextraktivstoffe als das Studium ihrer Abbauprodukte ins Auge gefaßt wurde.

Waren einmal die Art und die Mengenverhältnisse der Abbauprodukte festgestellt, so konnte man hoffen, aus diesen Untersuchungen wichtige Rückschlüsse auf die Grundsubstanzen ziehen zu können.

So wurde in der vorliegenden Arbeit zum ersten Male der Versuch unternommen, Muskelextrakte einer *Verseifung* mit 30 %iger Natronlauge zu unterwerfen. Bei diesem Prozeß kam es zur Bildung von flüchtigen, zweifellos aus den stickstoffhaltigen Muskelextraktivstoffen entstandenen Basen, welche in Salzsäure aufgefangen und zunächst auf ihre chemische Beschaffenheit hin geprüft wurden. In weiterer Folge war eine *quantitative Trennung der isolierten Basenchlorhydrate* beabsichtigt.

Qualitativ konnten folgende Verhältnisse festgestellt werden: Die Verseifung sämtlicher nach oben geschildertem Verfahren hergestellter Extrakte ergab durchwegs ein Gemenge von *Ammoniak*, *Methylamin* und *Trimethylamin*, deren Nachweis folgendermaßen geführt wurde: Das durch Verseifung mit 30 %iger Lauge aus den Extrakten gewonnene Gemenge der Basenchlorhydrate wurde nach dem Verfahren von *Bertheaume*¹ einer Extraktion mit Chloroform unterzogen, wobei ein *chloroformunlöslicher* und ein *chloroformlöslicher* Anteil gewonnen wurden. Im chloroformunlöslichen Teil ließ sich neben Salmiak *Methylaminchlorhydrat* mittels der, übrigens ziemlich unempfindlichen, Reaktion von *Tsalapatani*² nachweisen. Der chloroformlösliche Teil enthielt lediglich *Trimethylaminchlorhydrat*, das mittels Schmelzpunktbestimmung und durch Überführung in das entsprechende Pikrolonat und Perjodid identifiziert werden konnte.

Demgegenüber gestaltete sich die Untersuchung der *Mengenverhältnisse* der Basenchlorhydrate viel schwieriger. Während die Abtrennung des Trimethylaminchlorhydrates nach der Methode von *Bertheaume* quantitativ erfolgte, ergaben sich ungeahnte Schwierigkeiten beim Versuch der quantitativen Trennung des Methylamins von Ammoniak. Die Durchsicht zahlreicher diesbezüglicher Literaturangaben ließ zwar eine Menge Trennungsmöglichkeiten aussichtsreich erscheinen, deren Durchführung führte jedoch durchwegs zu Mißerfolgen. Vielversprechend erschien beispielsweise die Methode von *P. A. Valton*³ zum Nachweis von Methylamin neben Ammoniak. Methylamin reagiert nämlich rasch mit Dinitro-2-4-chlorbenzol in alkoholischer Lösung unter Bildung von Dinitro-2-4-N-methylanilin, das wenig in Alkohol löslich ist, so daß Methylamin neben viel Ammoniak gut erkannt werden kann. Der Versuch, diese Nachweisreaktion des Methylamins

¹ Compt. rend. 150, 1251, 1910; 151, 146, 1910.

² Bull. de la soc. de Steinte din Bucuresci 16, 67, 1907.

³ Journ. Chem. Soc. London 127, 40, 1925; C. 1925, I, 2177.

neben
Mittels
hydrat
Vielfac
isoliert

N
Bestin
der L
fielen
eine q
zu ern
Herzig
stoffsä
Jodall
in alko
und A
gewog
dieser
Makro
übertr
runger
selbst
modifi
Si
in den
So
der au
geben.
D.
Muske
Muske
durchg
Basen
bestan
W
gattun
er als

1
2
3
4

organis

5

Seyler,

neben Ammoniak für quantitative Zwecke auszuwerten, schlug jedoch fehl. Mittels dieser Umsetzung gelingt es gerade noch, 0,2 g Methylaminchlorhydrat neben Ammoniak mit Sicherheit nachzuweisen, welche Mengen ein Vielfaches des aus den verschiedenen Muskelextrakten nach der Verseifung isolierten Methylaminchlorhydrates darstellen.

Nach vielen mühevollen und erfolglosen Versuchen, eine quantitative Bestimmung des Methylamins neben Ammoniak an der Hand der in der Literatur angeführten Trennungsreaktionen durchzuführen, verfielen wir auf den Gedanken, den Methylamingehalt indirekt durch eine quantitative Bestimmung des *an Stickstoff gebundenen Methyls* zu ermitteln. Alkylimidhaltige Verbindungen spalten bekanntlich nach *Herzig* und *Meyer*¹ unter Einwirkung von konzentrierter Jodwasserstoffsäure bei höherer Temperatur das gesamte Alkyl in Form von Jodalkyl ab. Dieses wird, nachdem es entsprechend gereinigt wurde, in alkoholische Silbernitratlösung geleitet, woselbst es sich zu Jodsilber und Alkohol umsetzt. Das gebildete Jodsilber wird abfiltriert und gewogen und es entspricht ein Mol AgJ einer Alkylgruppe. Das Prinzip dieser Methylimidbestimmung, die ursprünglich lediglich Zwecken der Makroanalyse diente, wurde von *Pregl*² auf mikroanalytisches Gebiet übertragen und sinngemäß umgearbeitet. Zweckdienliche Verbesserungen wurden von *Eldbacher*³ durchgeführt, die *Preglsche* Apparatur selbst wurde in vorteilhafter Weise am hiesigen Institut von *A. Friedrich*⁴ modifiziert.

Sämtliche in dieser Arbeit angeführten Methylimidanalysen wurden in dem von *Friedrich* angegebenen Apparat ausgeführt.

Somit war ein Weg zur quantitativen Trennung und Bestimmung der aus der Verseifung der Muskelextrakte resultierenden Basen gegeben.

Da es von vornherein klar war, daß nicht alle stickstoffhaltigen Muskelextraktivstoffe quantitativ verseifbar sind, wurde bei allen Muskelauszügen eine *Gesamtstickstoffbestimmung* durch Kjeldahlisieren durchgeführt, um nach Abzug der durch Verseifung entstandenen Basen einen Überblick über den nicht verseifbaren Anteil der Muskelbestandteile zu gewinnen.

Wir untersuchten neben den weiter unten anzuführenden Tiergattungen auch den Kabeljaumuskel, von dem anzunehmen war, daß er als Seefischmuskel auch *Trimethylaminoxid*⁵ enthält. Zur Be-

¹ Ber. 27, 319, 1894; M. 15, 613, 1894; 16, 599, 1895; 18, 379, 1897.

² Quantitative organische Mikroanalyse, 2. Aufl., 1923, S. 188.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 278, 1918.

⁴ Mikrochemie, 7. Jahrg., Band 1, 195, 1929; *Pregl*, Quantitative organische Mikroanalyse, 3. Aufl., 1930, S. 215.

⁵ *Suwa*, Arch. f. d. ges. Physiol. 128, 421, 1909; 129, 231, 1909; *Hoppe-Seyler*, Ronas Ber. 50, 179, 1929.

stimmung des letzteren mußte eine Methode zurechtgelegt werden. Poller und Linneweh¹ geben an, daß man Trimethylaminoxid mit Zinkstaub in alkalischer Lösung zu Trimethylamin reduzieren kann. Diese Reaktion wurde auf unsere Versuche mit Erfolg übertragen.

In den Bereich der Untersuchungen wurden Muskeln folgender Tiergattungen gezogen: Rind, Kaninchen, Hund, Karpfen, Kabeljau und Regenwürmer. Mit Ausnahme des Rinds- und Kabeljaumuskels gelangte das übrige Material in lebensfrischem Zustande zur Verarbeitung.

Spezielle Versuchsmethodik.

Das Verfahren zur Herstellung der Muskelextrakte ist bereits oben beschrieben worden. Die eiweiß- und phosphatidfreie, hellgelb bis braun gefärbte Flüssigkeit wurde jeweils in einen Meßkolben gebracht und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Aliquote Teile derselben dienten verschiedenen Untersuchungen.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1 ccm des jeweiligen Extraktes wurde kjeldahlisiert.

Verseifung des Extraktes mit Natronlauge.

Die Verseifung wurde in einem 750 ccm fassenden Kjeldahlversuchskolben vorgenommen. Dieser wurde mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen, in dessen eine Bohrung ein Tropftrichter, in dessen andere Bohrung der kürzere Schenkel eines zweimal im rechten Winkel abgebogenen Gasentbindungsrohres gesteckt und knapp unter dem Stopfen abgeschnitten war. Über den viel längeren Schenkel des Gasentbindungsrohres, der in eine Vorlage mit doppeltnormaler Salzsäure eintauchte, wurde zur Kühlung der abdestillierenden Dämpfe ein Kühlmantel geschoben. In den Kolben kam ein aliquoter Teil des zu untersuchenden Extraktes (etwa 20 ccm), weiter 100 ccm Wasser, 100 ccm 30% iger Natronlauge und zur Vermeidung des Siedeverzuges einige Bimssteinstückchen. Der Tropftrichter wurde ebenfalls mit Wasser gefüllt. Nun wurde erhitzt und das verdampfte Wasser von Zeit zu Zeit durch neues aus dem Tropftrichter ersetzt. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis keine alkalisch reagierende Flüssigkeit mehr überging, was bei der Verseifung der meisten Extrakte leider geraume Zeit in Anspruch nahm (12 bis 36 Stunden). Die Destillate wurden am Wasserbade eingeengt, getrocknet und gewogen. So erhielt man ein Gemenge der Basen in Form ihrer Chlorhydrate, die durch Verseifung der Muskelextraktivstoffe gebildet worden waren. Zwecks Reinigung wurden die Chlorhydrate einer neuerlichen Destillation mit starker Natronlauge im gleichen Apparat unterworfen. Nur wurde in diesem Falle die Lauge nicht direkt in den Kolben hineingebracht, sondern zur Vermeidung von Verlusten aus dem Tropftrichter zufließen gelassen. Das Destillat wurde wieder eingeengt, getrocknet und gewogen. Man erhielt so ein schneeweißes Pulver, das ein Gemenge der Chlorhydrate von Ammoniak, Methylamin und Trimethylamin darstellt.

¹ Ber. 59, 1362, 1926.

Abtrennung des Trimethylaminchlorhydrates.

Das Gemenge der drei Chlorhydrate wurde möglichst quantitativ in einen trockenen 200-Erlenmeyerkolben gebracht und mit Chloroform 4 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wurde vom ungelöst gebliebenen Rückstand abfiltriert, der letztere mit Chloroform wiederholt extrahiert und das Filtrat in einer gewogenen Kristallisierschale eingedampft, getrocknet und zur Wägung gebracht. Die abgeschiedenen Nadeln stellen das Trimethylaminchlorhydrat dar, dessen Schmelzpunkt 271 bis 275° mit dem in der Literatur angeführten vollkommen übereinstimmte. Überdies wurde das Trimethylaminchlorhydrat in das Perjodid $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{HJ} \cdot \text{J}_4$, das Pikrolonat $(\text{CH}_3)_3\text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5$ und das Chloraurat $(\text{CH}_3)_3\text{N} \cdot \text{HCl} \cdot \text{AuCl}_3$ übergeführt, welche Verbindungen sich mit den in der Literatur zitierten analogen Stoffen gänzlich identisch erwiesen.

Bestimmung des Methylaminchlorhydrates durch Methylimidanalyse.

Der in Chloroform unlösliche Rückstand wurde in Wasser gelöst und in einer gewogenen Schale zur Trockne und sodann zur Wägung gebracht. Das erhaltene weiße, vollkommen homogen aussehende Pulver stellt ein Gemenge von Salmiak und Methylaminchlorhydrat dar. Der Methylaminchlorhydratgehalt dieses Gemenges wird indirekt durch Methylimidanalyse nach *Pregl* im *Friedrichs*chen Apparat bestimmt.

Hier seien zwei Testanalysen als Belege für die Leistungsfähigkeit des Apparates angeführt:

Kreatin $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2\text{N}_3$.

7,388 mg Substanz ergaben 13,234 mg AgJ.

Ber.: CH_3 11,45% ;

gef.: CH_3 11,46%.

Trimethylaminchloraurat $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{HCl}-\text{AuCl}_3$.

3,604 mg Substanz ergaben 5,945 mg AgJ.

Ber.: 3 CH_3 11,28% ;

gef.: 3 CH_3 10,56%.

Die Methylimidanalyse des chloroformunlöslichen Anteils des Verseifungsrückstandes wurde jeweils so ausgeführt, daß 20 bis 30 mg des entsprechenden Gemenges untersucht wurden. Es wurden immer mindestens zwei, manchmal auch mehrere Doppelbestimmungen ausgeführt. Der erhaltene Methylimidwert wurde auf Methylaminchlorhydrat umgerechnet.

Der Salmiakgehalt wurde aus der Differenz errechnet.

Bestimmung des Trimethylaminoxids.

Nach erfolgter Verseifung des Muskelextraktes mit 30%iger Natronlauge wurden zum erkalteten Verseifungsrückstand etwa 10 g Zink-

staub p. a. zugesetzt und die Destillation wieder in Gang gebracht. Nach einiger Zeit begann eine alkalisch reagierende Flüssigkeit überzugehen, welche in einer Vorlage mit 2 n-Salzsäure aufgefangen wurde. Das Destillat wurde eingengt, zur Trockne gebracht und dann mit Chloroform extrahiert. Der eingedampfte Chloroformauszug schied Nadeln vom Schmelzpunkt 271 bis 275° aus, die durch Überführung in das Pikrolonat als Trimethylaminchlorhydrat identifiziert werden konnten.

Diese zunächst beim Kabeljaumuskelextrakt ausgeführte Bestimmung wurde dann auch auf den Rinds- und Hundemuskelauszug ausgedehnt.

Analytische Belege.

I. Rindsmuskel A.

Aus 445 g Rindsmuskel wurden nach oben gegebener Vorschrift 100 ccm eines eiweiß- und phosphatidfreien Auszuges verfertigt.

1 ccm dieses Extraktes entspricht 4,45 g feuchten Muskels.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. Für 1 ccm des Extraktes wurden 6,393 ccm n/10 Salzsäure verbraucht. 1 ccm entsprechend 4,45 g Muskeln enthält 0,0090 g N.

100 g feuchten Muskels enthalten 0,2022 g N.

2. 1 ccm Extrakt; es wurden gebunden 6,293 ccm n/10 HCl.

4,45 g Muskel enthalten 0,0088 g N,

100 g „ „ 0,1977 g N.

Verseifung des Rindsmuskelextraktes, Trennung der entstandenen Basenchlorhydrate und Bestimmung des Trimethylaminoxids.

20 ccm Extrakt (entsprechend 89 g Muskeln) werden, wie oben beschrieben, mit 30% iger Natronlauge verseift. Die erhaltenen Chlorhydrate werden mit Chloroform ausgezogen, der chloroformunlösliche Rückstand einer Methylamidanalyse unterworfen. Der Verseifungsrückstand wird schließlich mit Zinkstaub destilliert.

89 g Muskel ergaben 0,4038 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}, \end{array} \right.$

das sind 0,4537 in 100 g Muskelsubstanz.

89 g Muskel ergaben 0,0670 g $(\text{CH}_3)_3\text{N, HCl}$,

das sind 0,0753 g in 100 g Muskelsubstanz,

daraus berechnen sich 0,0110 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskulatur.

89 g Muskel ergaben 0,3368 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}, \end{array} \right.$

das sind 0,3784 g in 100 g Muskelsubstanz.

Nach der Zinkstaubdestillation:

89 g Muskel ergaben 0,0091 g $(\text{CH}_3)_3\text{N, HCl}$,

das sind 0,0080 g $(\text{CH}_3)_3\text{NO}$ in 100 g Muskelsubstanz und 0,0015 g $(\text{CH}_3)_3\text{NO-Stickstoff}$ in 100 g Muskelsubstanz.

1. l
hydrat
dar

2. l
dar

3. l
dar

Aus
eines fe
Dies
des bei
des Ex

1 cc
In
„ 1

20 c
ben, ve

dar

Methylimidwerte.

1. 16,664 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 89 g Muskeln lieferten 4,819 mg AgJ,

daraus berechnen sich 0,0315 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel
und 0,0065 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. 15,740 mg desselben Gemenges ergaben 4,123 mg AgJ,

daraus errechnen sich 0,0285 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel
und 0,0059 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

3. 12,953 mg lieferten 3,647 mg AgJ,

daraus ergeben sich 0,0307 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskulatur
und 0,0064 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel-
substanz.

Mittelwerte.

0,0302 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel
und 0,0062 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Bestimmung des Salmiakgehaltes.

0,3784 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskulatur
– 0,0302 g $\text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl}$ „ 100 g „
= 0,3482 g NH_4Cl „ 100 g „ und
0,0911 g $\text{NH}_3\text{-Stickstoff}$ „ 100 g Muskel.

II. Rindsmuskel B.

Aus 425 g Rindsmuskel wurden unter analogen Bedingungen 100 ccm eines fett- und eiweißfreien Extraktes erhalten.

Diese Paralleluntersuchung wurde hauptsächlich wegen der Kontrolle des bei der Verseifung entstehenden Trimethylamins unternommen. 1 ccm des Extraktes entspricht 4,25 g Muskulatur.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1 ccm Extrakt; 6,07 ccm n/10 HCl.

In 4,25 g Muskel sind 0,0085 g Stickstoff enthalten.

„ 100 g „ „ 0,2000 g „ „

1. Verseifung des Extraktes und Bestimmung des Trimethylamingehaltes.

20 ccm Extrakt (entsprechend 85 g Muskel) wurden, wie oben beschrieben, verarbeitet.

85 g Muskel lieferten 0,3827 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl} \end{array} \right\}$
das sind 0,4502 g in 100 g Muskel.

85 g Muskel lieferten 0,0568 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,

das sind 0,0668 g in 100 g Muskel,

daraus berechnen sich 0,0098 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. Parallelverseifung des Extraktes und Bestimmung des Trimethylamins.

2. 40,7
darf

30 ccm Extrakt (127,5 g Muskel) wurden wie oben verarbeitet.

$$127,5 \text{ g Muskel lieferten } 0,6402 \text{ g } \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{cases}$$
3. 26,0
darf

das sind 0,5022 g in 100 g Muskel,

127,5 g Muskel lieferten 0,0766 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,

das sind 0,0601 g in 100 g Muskel,

daraus berechnen sich 0,0088 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

III. Kaninchenmuskel.

335 g Kaninchenmuskel wurden nach gegebener Vorschrift verarbeitet. Es resultierten 50 ccm eines eiweiß- und phosphatidfreien Auszuges.

1 ccm desselben entspricht 6,7 g feuchten Muskels.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 9,495 ccm n/10 HCl,
6,7 g Muskel enthalten 0,0133 g N,
100 g „ „ 0,1990 g N.
2. 1 ccm Extrakt; 9,69 ccm n/10 HCl,
6,7 g Muskel enthalten 0,0136 g N,
100 g „ „ 0,2030 g N.
3. 1 ccm Extrakt; 9,49 ccm n/10 HCl,
6,7 g Muskel enthalten 0,0133 g N,
100 g „ „ 0,1990 g N.

960
verarb
befreit

Verseifung des Kaninchenmuskelextraktes, Trennung und Bestimmung der Basenchlorhydrate.

15 ccm des Extraktes (100,5 g Muskel) wurden verseift und wie sonst üblich aufgearbeitet.

$$100,5 \text{ g Muskel ergaben } 0,5036 \text{ g } \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{cases}$$

20

das sind 0,5011 g in 100 g Muskel.

100,5 g Muskel ergaben 0,0142 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,

das sind 0,0141 g in 100 g Muskel.

Daraus errechnen sich 0,0020 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.
$$100,5 \text{ g Muskel ergaben } 0,4894 \text{ g } \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{cases}$$

da

das sind 0,4869 g in 100 g Muskel.

Methylimidwerte.

1. 9,704 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 100,5 g Muskel lieferten 1,217 mg AgJ.

N

Daraus folgen 0,0176 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskelund 0,0036 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. 40,749 mg lieferten 6,250 mg AgJ,
daraus berechnen sich 0,0215 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel
und 0,0044 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.
3. 26,072 mg lieferten 4,049 mg AgJ,
daraus ergeben sich 0,0217 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel
und 0,0044 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Bestimmung des Salmiakgehaltes.

$$\begin{aligned}
 &0,4869 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\} \text{ in 100 g Muskel} \\
 &- 0,0216 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \text{ ,, 100 g ,, , daraus folgen:} \\
 &= 0,4653 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ ,, 100 g ,, und} \\
 &0,1217 \text{ g } \text{NH}_3\text{-Stickstoff in 100 g Muskel.}
 \end{aligned}$$

IV. Hundemuskel.

960 g Muskel wurden eine halbe Stunde nach dem Verenden des Tieres verarbeitet und lieferten 100 ccm eines von Eiweiß und Phosphatiden befreiten Auszuges. 1 ccm entspricht 9,6 g feuchter Muskulatur.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 8,593 ccm n/10 HCl.
9,6 g Muskel enthalten 0,0120 g N.
100 g ,, ,, 0,1250 g N.
2. 1 ccm Extrakt; 8,693 ccm n/10 HCl.
9,6 g Muskel enthalten 0,0122 g N.
100 g ,, ,, 0,1270 g N.

Verseifung des Hundemuskelextraktes;
Trennung und Bestimmung der Basenchlorhydrate,
Bestimmung des Trimethylaminoxids.

20 ccm des Extraktes (192 g Muskel) wurden verseift.

$$\begin{aligned}
 &192 \text{ g Muskel ergaben } 0,4990 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{array} \right. \\
 &\text{das sind } 0,2599 \text{ g in 100 g Muskel.}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &192 \text{ g Muskel ergaben } 0,0386 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl,} \\
 &\text{das sind } 0,0201 \text{ g in 100 g Muskel,}
 \end{aligned}$$

daraus ergeben sich 0,0030 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

$$\begin{aligned}
 &192 \text{ g Muskel ergaben } 0,4604 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right. \\
 &\text{das sind } 0,2398 \text{ g in 100 g Muskel.}
 \end{aligned}$$

Nach der Zinkstaubdestillation:

$$\begin{aligned}
 &192 \text{ g Muskel lieferten } 0,0206 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl,} \\
 &\text{das sind } 0,0084 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NO in 100 g Muskel und} \\
 &0,0016 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NO-Stickstoff in 100 g Muskel.}
 \end{aligned}$$

Methylimidanalysen.

1. 21,413 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 192 g Muskel ergaben 3,246 mg AgJ.

Daraus ergeben sich 0,0105 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0022 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. 23,281 mg; 3,586 mg AgJ.

Daraus berechnen sich 0,0106 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0022 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Salmiakwert.

0,2398 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskel
— 0,0105 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel,
das sind 0,2293 g NH_4Cl in 100 g Muskel und
0,0600 g $\text{NH}_3\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

V. Karpfenmuskel.

430 g Karpfenmuskel lieferten 100 ccm Extrakt. 1 ccm entspricht
4,3 g feuchten Karpfenmuskels.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 3,295 ccm n/10 HCl.
4,3 g Karpfenmuskel enthalten 0,0046 g N.
100 g „ „ „ 0,1073 g N.
2. 1 ccm Extrakt; 3,395 ccm n/10 HCl.
4,3 g Muskel enthalten 0,0048 g N.
100 g „ „ „ 0,1105 g N.

Verseifung des Muskelextraktes, Abtrennung und Bestimmung der Basen.

20 ccm des Extraktes (86 g Muskel) wurden verseift.

86 g Muskel lieferten 0,1816 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{array} \right.$

das sind 0,2112 g in 100 g Muskel,

86 g Muskel lieferten 0,0101 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,

das sind 0,0117 g in 100 g Muskel.

Daraus folgen 0,0017 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

86 g Muskel lieferten 0,1715 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right.$
das sind 0,1994 g in 100 g Muskel.

Methylimidanalysen.

1. 17,575 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 86 g Muskel ergaben 2,225 mg AgJ.

Daraus folgen 0,0073 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0015 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. 18,999 mg ergaben 2,325 mg AgJ.

Daraus ergeben sich 0,0070 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0015 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Mittelwerte.

100 g Muskel enthalten 0,0072 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ und
0,0015 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$.

Bestimmung des Salmiakgehaltes.

0,1994 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskel
— 0,0072 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel,
das sind 0,1922 g NH_4Cl in 100 g Muskel und
0,0503 g $\text{NH}_3\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

VI. Kabeljaumuskel¹.

Die Untersuchung des Kabeljaumuskels gestaltete sich insofern ein wenig anders, als doch berücksichtigt werden mußte, daß im Kabeljaumuskel Amine *vorgebildet* vorkommen, und zwar in freier Form. Deswegen mußten zwei Serien von Bestimmungen ausgeführt werden.

A. Bestimmung der präformierten Basen.

80 g Kabeljaumuskel wurden zerkleinert und im oben beschriebenen Verseifungsapparat direkt mit Wasser in eine Vorlage mit Salzsäure so lange destilliert, bis keine flüchtigen Basen mehr übergingen. Das Destillat wurde eingengt und die erhaltenen Basenchlorhydrate zur Reinigung nochmals mit 30% iger Lauge destilliert. Die Aufarbeitung der gereinigten Chlorhydrate erfolgte wie gewöhnlich.

Es wurden erhalten:

0,3866 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{array} \right\}$,
das sind 0,4832 g in 100 g Muskel,
0,2089 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,
das sind 0,2611 g in 100 g Muskel,
demnach 0,0383 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.
0,1777 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$,
das sind 0,2221 g in 100 g Muskel.

Methylimidbestimmungen.

1. 26,375 mg des Gemenges aus 80 g Muskel lieferten 40,811 mg AgJ.

Daraus berechnen sich 0,0990 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0205 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

2. 7,129 mg lieferten 11,525 mg AgJ.

Demnach enthalten 100 g Muskel 0,1036 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ und
0,0215 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$.

¹ Der Kabeljaumuskel wurde von der Nordseefischerei in gefrorenem Zustande bezogen.

Salmiakgehaltsbestimmung.

- 0,2221 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskel 1. 21,1
Darf
- 0,1013 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel,
- das sind 0,1208 g NH_4Cl in 100 g Muskel und 2. 20,2
- 0,0316 g $\text{NH}_3\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

B. Darstellung eines alkoholischen Auszuges aus dem Kabeljaumuskel.

620 g Muskel wurden wie gewöhnlich aufgearbeitet. Es wurden nach der Entfernung von Eiweiß und Phosphatiden 100 ccm eines braungelb gefärbten Extrakts erhalten. 1 ccm entspricht 6,2 g Muskel.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 9,79 ccm n/10 HCl.
6,2 g Muskel enthalten 0,0137 g N,
100 g „ „ 0,2210 g N.
2. 1 ccm Extrakt; 9,993 ccm n/10 HCl,
6,2 g Muskel enthalten 0,0140 g N,
100 g „ „ 0,2256 g N.

Verseifung des Muskelextrakts, Trennung und Bestimmung der Basen und des Trimethylaminoxids.

52
der Aus
entspri

20 ccm des Extrakts, entsprechend 124 g feuchter Muskulatur, wurden zunächst durch Destillation mit Wasser von den vorgebildeten Basen, deren Gehalt in einer anderen Analyse bestimmt wurde, befreit. Hierauf wurden durch den Tropftrichter etwa 100 ccm 30% iger Lauge zufließen gelassen und die Destillation fortgesetzt. In der Vorlage befand sich 2 n-HCl. Die Reinigung der erhaltenen Chlorhydrate erfolgte wie immer durch eine neuerliche Destillation mit 30% iger Lauge. Der Verseifungsrückstand wurde schließlich einer Zinkstaubdestillation unterworfen.

- 124 g lieferten 0,4493 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{array} \right\}$ Vers
- das sind 0,3623 g in 100 g Muskel.
- 124 g lieferten 0,1035 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$, 20
- das sind 0,0835 g in 100 g Muskel,
- dennach 0,0122 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.
- 124 g Muskel lieferten 0,3458 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$,
- das sind 0,2788 g in 100 g Muskel.

Nach der Zinkstaubdestillation:

- 124 g Muskel lieferten 0,0264 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$, Da
- das sind 0,0167 g $(\text{CH}_3)_3\text{NO}$ in 100 g Muskel und
- 0,0031 g $(\text{CH}_3)_3\text{NO-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Methylimidanalysen.

1. 21,184 mg des Gemenges aus 124 g lieferten 7,752 mg AgJ.
Daraus ergeben sich 0,0294 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0061 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.
2. 20,292 mg des Gemenges; 6,412 mg AgJ.
Daraus folgen: 0,0254 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0053 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Mittelwerte.

0,0274 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0057 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

Berechnung des Salmiakgehalts.

0,2788 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskel
— 0,0274 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl}$ in 100 g Muskel,
das sind 0,2514 g NH_4Cl in 100 g Muskel und
0,0658 g $\text{NH}_3\text{-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

VII. Regenwürmer.

527 g frische Regenwürmer wurden direkt mit Alkohol extrahiert und der Auszug wie sonst verarbeitet. 1 ccm des dunkelbraun gefärbten Extrakts entspricht 5,27 g Regenwurmgewebe.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 2,295 ccm n/10 HCl,
5,27 g Muskel enthalten 0,0032 g N.
100 g „ „ 0,0610 g N.
2. 1 ccm Extrakt; 2,395 ccm n/10 HCl,
5,27 g Muskel enthalten 0,0034 g N,
100 g „ „ 0,0640 g N.

Verseifung des Regenwurmextrakts und Bestimmung der einzelnen Basen.

20 ccm Extrakt (105,4 g Muskel) wurden verseift.

105,4 g Muskel lieferten 0,0584 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N-HCl} \end{array} \right\}$
das sind 0,0554 g in 100 g Muskel.

105,4 g Muskel lieferten 0,0028 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-HCl}$,
das sind 0,0027 g in 100 g Muskel.

Daraus errechnen sich 0,0004 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-Stickstoff}$ in 100 g Muskel.

105,4 g Muskel lieferten 0,0556 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-HCl} \end{array} \right\}$,
das sind 0,0530 g in 100 g Muskel.

Methylimidanalyse.

14,737 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 105,4 g Regenwurmmuskel ergaben 4,782 mg Ag J.

Daraus folgen 0,0059 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$ in 100 g Muskel und
0,0012 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Bestimmung des Salmiakgehalts.

0,0530 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\cdot\text{HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Muskel

– 0,0059 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$ in 100 g Muskel,

das sind 0,0471 g NH_4Cl in 100 g Muskel und

0,0123 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Diskussion der Ergebnisse.

Bei der Betrachtung der Tabelle ergibt sich die Frage, welche Rückschlüsse die angeführten analytischen Belege zulassen? Zunächst läßt sich feststellen, daß die bei der Untersuchung der Säugetiermuskeln erhaltenen Werte wohl schwanken, aber im großen und ganzen fast durchweg in derselben Größenordnung liegen. Die Ergebnisse der *Karpfenmuskel*untersuchung differieren auffallenderweise wenig von denen der Säugetiermuskeln, dagegen ist der Unterschied gegenüber dem *Kabeljaumuskel* eklatant. Abgesehen von der Tatsache, daß man im Kabeljaumuskel Ammoniak, Methylamin und Trimethylamin in großer Menge vorgebildet vorfindet, weichen auch die anderen durch Verseifung des Kabeljaumuskelextrakts erhaltenen Werte einigermaßen von denen des Karpfenmuskels ab.

Nicht zu vergleichen sind ferner die bei der Untersuchung der *Regenwürmer* erzielten Resultate, was bei der vollkommenen Verschiedenheit der Tierklasse nicht weiter wundernimmt. Auch sind in diesem Falle nicht isolierte Muskeln, sondern Extrakte aus ganzen Tieren zur Untersuchung gelangt.

Was die Auswertung der erhaltenen Zahlen betrifft, so muß folgendes bemerkt werden:

a) Ammoniak.

Die Ammoniak-Stickstoffwerte haben bis auf den Fall des Kabeljaumuskels, wo erhebliche Mengen vorgebildeten Ammoniaks vorkommen, durchweg nichts zu besagen, weil, abgesehen von der sehr geringen Menge des präformierten Ammoniaks¹, das letztere in allen angeführten Fällen durch Verseifung verschiedener Grundsubstanzen gebildet wird. Als solche kommen in Betracht das Carnosin, welches bei der Verseifung mit starker

¹ Fürth und Schwarz (l. c.): 0,007 bis 0,023 g in 100 g feuchten Muskels; nach Grafe (Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 311, 1906): 0,011 bis 0,014 g in 100 g Muskel.

Tabelle.
100 g feuchten Muskels enthalten alkoholischen Stickstoff in Gramm

Art des N	Rind	Kaninchen	Hund	Karpfen	Kabeljau	Regenwürmer
Gesamt-N *	{ 0,2022 0,1977 0,2000 }	{ 0,1990 0,2030 0,1990 }	{ 0,1250 0,1270 }	{ 0,1073 0,1105 }	{ 0,2210 0,2256 }	{ 0,0610 0,0640 }
	0,0911	0,1217	0,0600	0,0503	vorgebildet d.Verseif.gesamt: 0,0316 0,0658	0,0123
	{ 0,0065 0,0059 0,0064 }	{ 0,0036 0,0044 0,0044 }	{ 0,0022 0,0022 }	{ 0,0015 0,0015 }	{ 0,0205 0,0215 d.Verseif.gesamt: 0,0061 0,0053 }	0,0012
Trimethylamin-N	{ 0,0110 0,0098 0,0088 }	0,0020	0,0030	0,0017	vorgebildet 0,0388 d.Verseif.gesamt: 0,0122	0,0004
	0,0015	Nicht untersucht	0,0016	Nicht untersucht		Nicht untersucht
Trimethylamin-oxid-N	0,0927	0,0726	0,0608	0,0554		0,0486

* O. Fürth und C. Schwarz (l. c.) geben als Gesamtextraktivstickstoff für die Skelettmuskeln des Pferdes und des Hundes 0,379 bis 0,426 g in 100 g feuchter Muskulatur an. Die alkoholischen Extrakte enthalten viel weniger Gesamtstickstoff, da außer den hochmolekularen Eiweißspaltprodukten auch größere Mengen des in Alkohol schwer löslichen Kreatins und Carnosins entfallen.

Lauge ein Molekül Ammoniak, und zwar aus der β -Alaningruppe, abspaltet; weiter das Kreatin und Kreatinin — beide Substanzen geben bei der Verseifung mit starker Lauge je zwei Moleküle Ammoniak ab —, und schließlich das Methylguanidin, das beim Erhitzen mit Kalilauge Ammoniak neben Methylamin liefert².

Die Ammoniak-Stickstoffwerte sind also keineswegs spezifisch und sind nicht weiter verwertbar.

b) Methylguanidin.

Dagegen lassen sich sowohl aus den erhaltenen Methylamin- als auch aus den Trimethylaminstickstoffwerten interessante Schlüsse ableiten.

Als *Muttersubstanz* für das bei der Verseifung der Muskelextrakte entstandene Methylamin kommt unter den *Muskelextraktivstoffen* lediglich das Methylguanidin in Betracht, und zwar aus folgender Überlegung heraus: Theoretisch können neben dem Methylguanidin als Grundstoffe für das Methylamin das Kreatin und Kreatinin und in der Vogelmuskulatur das Anserin angesprochen werden. Nun spaltet das Kreatin und Kreatinin bei der Verseifung mit starken Alkalien bloß Ammoniak, aber kein Methylamin³ ab. Diese aus der Literatur her bekannte Tatsache wurde in eigenen Versuchen überprüft und bestätigt gefunden. Das Anserin spaltet mit starken Alkalien ebenfalls kein Methylamin ab⁴, die Methylgruppe befindet sich nämlich an einem Stickstoff des alkalibeständigen Imidazolringes.

Da überdies bei der beschriebenen Aufarbeitung des Materials keine Gefahr einer Oxydation des Kreatins bzw. Kreatinins zum Methylguanidin bestand, kann geschlossen werden, daß das Methylamin nur dem Methylguanidin entstammt und daß somit *das Methylguanidin einen nativen Muskelbestandteil darstellt*. Komarow⁵ ist es gelungen, aus 100 g Ochsenfleisch 0,006 g Methylguanidin zu isolieren. Rechnet man den bei unserer Rindsmuskeluntersuchung gefundenen Methylaminstickstoffwert auf Methylguanidin um, so ergibt sich, daß in 100 g feuchten Rindsmuskels 0,0323 g Methylguanidin, somit etwa das Fünffache der von Komarow gefundenen Menge vorhanden sein müßten. Dies kann zur Illustration der bekannten Beobachtung dienen, daß gerade Methylguanidin sehr schwer quantitativ aus dem Muskel zu isolieren ist.

¹ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch der chemischen Analyse 1924 S. 193.

² Annalen 97, 339, 1856.

³ Neubauer, Annalen 137, 289, 294, 1866.

⁴ Keil, l. c.

⁵ l. c.

F
Trimel
arten
gesehe
acht g
komm

Es
Cholin
sicht di
method
muskel
weise a
sein vo
gebend.
Choling
licher T
Methyl
8,98 %
Fehlerg
aufgefa
auszufa
schaft
überein
das Cho

W:
es nur
worden

Be
Säugeti
ergibt s
Wert v
von 0,0

De
aus der
isoliert.

Da
methyl

1 A

2 G

3 J

4 Z

5 E

6 E

7 E

c) *Trimethylamin, Carnitin, Betain.*

Für das aus den Muskelauszügen durch Verseifung entstandene *Trimethylamin* kann als Stammsubstanz bei den untersuchten Säugetierarten hauptsächlich das *Carnitin*, bei den Fischen das *Betain* angesehen werden. Beim untersuchten Hundemuskel darf nicht außer acht gelassen werden, daß das darin, wenn auch nur in Spuren vorkommende Myokynin bei der Verseifung Trimethylamin liefern könnte.

Es liegt eine Angabe von *Kinoshita*¹ vor, nach der sich im Rindsmuskel *Cholin* bis zu einem Gehalt von 0,022% vorfinden soll. Die genauere Durchsicht dieser Arbeit ergab, daß *Kinoshita* bei der von ihm gewählten Arbeitsmethode, die bei anderen Organen sehr wohl anwendbar ist, aus dem Rindsmuskel in erster Linie Carnitin isoliert haben muß und dieses irrümlicherweise als Cholin aufgefaßt hat. Die von ihm zum Beweis für das Vorhandensein von Cholin angeführten Methylimidanalysen sind nicht ausschlaggebend, weil bei der Bestimmung des Methyls am Stickstoff zwischen dem Cholingoldsalz und der entsprechenden Carnitinverbindung kein wesentlicher Unterschied besteht. Für das Cholingoldsalz läßt sich nämlich ein Methylimidwert von 10,16%, für das Carnitinchloraurat ein solcher von 8,98% berechnen, es ergibt sich also eine Differenz, die noch innerhalb der Fehlergrenze liegen kann. Auch die von *Kinoshita* als Zersetzungserscheinung aufgefaßte Eigenschaft des von ihm isolierten Goldsalzes, zuerst gelb auszufallen und dann sich bräunlich zu verfärben, stimmt mit der Eigenschaft des Carnitinchloraurates, das in zwei Modifikationen² vorkommt, überein. *Kinoshita* hat wohl Carnitin in Händen gehabt, und der von ihm für das Cholin angeführte Wert wäre somit aus der Literatur zu streichen.

Was nun das Vorkommen des Cholins im Muskel betrifft, so ist es nur in Spuren von *R. Hunt*³ (etwa 0,001%) darin nachgewiesen worden.

Berücksichtigt man die von uns bei der Verseifung der untersuchten Säugetiermuskelextrakte erhaltenen Trimethylaminstickstoffzahlen, so ergibt sich durch Umrechnung auf das *Carnitin* beim Rindsmuskel ein Wert von 0,1265%, beim Kaninchen von 0,0230% und beim Hund von 0,034%.

*Demjanowski*⁴ hat aus dem Ochsenfleisch 0,029%, *Smorodinzew*⁵ aus dem Schaffleisch 0,045% und aus Pferdefleisch⁶ 0,017% Carnitin isoliert. *Skworzow*⁷ konnte aus Kalbfleisch 0,019% Carnitin darstellen.

Da bei der Verseifung des Rindsmuskelextraktes viel mehr Trimethylamin als bei derjenigen vom Kaninchen- und Hundemuskel-

¹ Arch. f. d. ges. Physiol. 132, 607, 1910.

² *Guggenheim*, Die biogenen Amine, 1924, S. 264.

³ Journ. pharm. Therap. 7, 301, 1915 und Chem. Centralbl. 1916, I, 79.

⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 212, 1912.

⁵ Ebendasselbst 92, 227, 1914.

⁶ Ebendasselbst 87, 20, 1913.

⁷ Ebendasselbst 68, 39, 1910.

extrakt erhalten wurde, und der aus dem Trimethylaminstickstoff errechnete Carnitinwert viel höher war als der in der Literatur für Rindsmuskel angeführte, wurde zwecks Überprüfung des Trimethylaminwertes ein zweiter Rindsmuskelextrakt von einem anderen Tier verfertigt, der Verseifung unterworfen und der Trimethylamingehalt bestimmt. Rechnet man diesen zweiten Trimethylaminstickstoffwert (0,0098 %) auf Carnitin um, so resultiert ein Gehalt von 0,1127 %. Eine parallel ausgeführte Verseifung desselben Rindsmuskelextraktes ergab einen Trimethylaminstickstoffwert von 0,0088 %, aus dem sich 0,1012 % Carnitin berechnen lassen.

Während also die auf Grund unserer Untersuchungen errechneten Carnitinwerte des Kaninchen- und Hundemuskel sich in derselben Größenordnung wie die in der Literatur angeführten, oben zitierten Carnitinzahlen bewegen, scheint der Rindsmuskel entgegen den Angaben in der Literatur viel carnitinreicher als die übrigen Säugetiermuskeln zu sein. Eine auf das Carnitin bezügliche Untersuchung ist im Gange.

Interessant gestaltete sich das Ergebnis der Untersuchung der *vorgebildeten Amine im Kabeljaumuskel*. Der Gehalt des Kabeljaumuskels an vorgebildetem Trimethylamin ist dreimal so groß wie derjenige des durch Verseifung des Muskelextraktes gewonnenen, zweifellos dem *Betain* entstammenden Trimethylamins. Rechnet man die durch Verseifung erhaltene Trimethylaminstickstoffzahl auf Betain um, so ergibt sich ein Gehalt von 0,1020 g in 100 g Kabeljaumuskel. *Suwa*¹ konnte aus 18 kg Dornhai etwa 15 g Betainchlorhydrat isolieren, was einem Gehalt von 0,063 g Betain in 100 g Dornhaimuskel entspricht.

Der Wert des präformierten Methylamins im Kabeljaumuskel übertrifft ebenfalls um ein Vielfaches denjenigen des durch Verseifung entstandenen Methylamins.

Dagegen ist das vorgebildete Ammoniak in viel geringerer Menge vorhanden als das erst durch Verseifung gebildete.

Wie der genetische Zusammenhang dieser präformierten Basen zu deuten ist, ob das Ammoniak und Methylamin durch Entmethylierung des Trimethylamins oder das Methyl- und Trimethylamin durch Methylierung des Ammoniaks entstanden sind, ist noch problematisch.

d) *Trimethylaminoxyd.*

Ferner ergab die Kabeljaumuskeluntersuchung, daß der Gehalt an Trimethylaminoxyd etwa nur $\frac{1}{10}$ des Trimethylamingehalts beträgt, was für die Annahme spricht, daß das Trimethylaminoxyd im Organismus

¹ Arch. f. d. ges. Physiol. 129, 231, 1909.

des K
und s
Trimet
zu spi

P
methy.
Trimet
Arbeit
amino:

A
im Sät
so da
amino:
muske

Di
Trimet
Angab

geringe
zustim
Betain
Nahru

De
Urspru
geben.

1.
Extrak
und ein
ermögl

2.
freiten

Ammon
tativen
Tabelle

3.
Verseif
Karpfe
und R

¹ Z

² F

³ Z

des Kabeljaus teilweise zu Trimethylamin reduziert wird. *Ackermann* und seinen Mitarbeitern¹ gelang es auch nachzuweisen, daß das Trimethylaminoxid die Rolle eines biologischen Wasserstoffakzeptors zu spielen befähigt ist.

Poller und *Linneweh*² haben aus 3,5 kg Heringsmuskel 1 g Trimethylaminoxidchlorhydrat dargestellt, was einem Gehalt von 0,0192 g Trimethylaminoxid in 100 g Muskel gleichkommt. Aus der vorliegenden Arbeit ergibt sich, daß in 100 g Kabeljaumuskel 0,0167 g Trimethylaminoxid enthalten sind, also fast ebensoviel wie im Heringsmuskel.

Außerdem konnte, wenn auch indirekt, das Trimethylaminoxid im Säugetiermuskel nachgewiesen und dessen Gehalt festgelegt werden, so daß man die Vermutung aussprechen kann, daß das Trimethylaminoxid einen integrierenden Bestandteil auch anderer Wirbeltiermuskeln bildet.

Die Verseifung des Regenwurmextraktes hat einen auffallend tiefen Trimethylamingehalt ergeben. Diese Beobachtung scheint mit der Angabe von *Ackermann* und *Kutscher*³, daß Betain und Cholin in sehr geringer Menge im Regenwurm anzutreffen sind, sehr gut übereinzustimmen. Die Autoren sind sogar geneigt anzunehmen, daß das Betain und Cholin nur aus den noch im Darmkanal vorhandenen Nahrungsresten stamme.

Dem Abschluß nahe, eingehende Untersuchungen sollen über den Ursprung des Trimethylamingehalts der Seefischmuskulatur Aufschluß geben.

Zusammenfassung.

1. Es wurden Methoden beschrieben, welche eine vorteilhafte Extraktion des Muskels, eine Verseifung des erhaltenen Muskelextraktes und eine quantitative Trennung und Bestimmung der gebildeten Amine ermöglichen.

2. Als Verseifungsprodukte der von Eiweiß und Phosphatiden befreiten Muskelextrakte verschiedener Tiergattungen konnten durchweg Ammoniak, Methyl- und Trimethylamin gefaßt werden. Die quantitativen Ergebnisse dieser Untersuchungen finden sich in der obigen Tabelle zusammengefaßt.

3. Wir haben ähnliche Mengenverhältnisse in bezug auf die durch Verseifung entstandenen Basen beim Rind, Kaninchen, Hund und Karpfen gefunden. Abweichende Ergebnisse konnten beim Kabeljau und Regenwurm festgestellt werden.

¹ Zeitschr. f. Biol. 1926; Ber. 59, 2750, 1926.

² Ber. 59, 1362, 1926.

³ Zeitschr. f. Biol. 75, 315, 1922.

4. Unter Berücksichtigung der äußerst schonenden Aufarbeitung des Muskels, bei welcher Oxydationsprozesse auszuschließen sind, und der Tatsache, daß weder Kreatin noch Kreatinin, welche Stoffe allein neben Methylguanidin als Stammsubstanzen des Methylamins in Betracht kommen, bei der Verseifung mit 30%iger Lauge Methylamin bilden, ist ein neuer Beweis für das präformierte Vorkommen des Methylguanidins im Muskel geliefert.

5. Das durch Verseifung gebildete Trimethylamin läßt Rückschlüsse auf den Carnitingehalt der untersuchten Säugetiermuskeln und den Betaingehalt der Fischmuskeln zu. Der Rindsmuskel enthält mehr Carnitin als die übrigen Säugetiermuskeln.

6. Es wurde der Gehalt der vorgebildeten Amine und des Trimethylaminoxids im Kabeljaumuskel festgelegt.

7. Das bisher nur im Seefischmuskel aufgefundene Trimethylaminoxid konnte indirekt auch im Säugetiermuskel nachgewiesen werden.

8. Aus den Analysen berechnet sich für den Rindsmuskel ein Gehalt von

0,0323 g Methylguanidin	in 100 g frischer Muskulatur,
0,1134 g Carnitin	„ 100 g „ „
0,0080 g Trimethylaminoxid	„ 100 g „ „

Für den Hundemuskel

0,0114 g Methylguanidin	in 100 g frischer Muskulatur,
0,0345 g Carnitin	„ 100 g „ „
0,0084 g Trimethylaminoxid	„ 100 g „ „

9. Eine biologische Ausnahmestellung nimmt der *Seefischmuskel* durch große Mengen darin enthaltener, vorgebildeter, freier Basen ein. Wir finden in 100 g feuchten Kabeljaumuskels

0,0384 g präformiertes Ammoniak,
0,0465 g „ Methylamin,
0,1614 g „ Trimethylamin,
0,0167 g „ Trimethylaminoxid.

Weiter läßt sich aus den Analysen ein Gehalt an Methylguanidin von 0,0297% und an Betain von 0,1020% errechnen.

Fortse
Mora
(
Marl
v
L
n
Blät
M
Ross
g
Ron
-4
Bun
Z
k
Bun
E
P
Mey
v
Naur
Kap
S
Loew
N
M
d
Han
si
E
Chris
P
Anse
k
L
Wol
Krog
sc
Neub
al
Wart
v
M
Alt, I
Aut

<i>Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.</i>	Seite
Moraczewski, Waclaw von und Stefan Grzycki. Über die Quellung der Gelatine in Säuren und Salzlösungen. II.	331
Martinson, E. E. und E. A. Wladimirowa. Anwendung der Methode von van Slyke und Palmer zur Titration organischer Säuren auf eiweißhaltige Flüssigkeiten. II. Mitteilung: Direkte Bestimmung organischer Säuren im Blute durch Titration	349
Blättler, Emil. Untersuchungen über den Stickstoffumsatz in der Muskulatur kohlenhydratarmer Tiere	359
Rossenbeck, H. Verfahren zum raschen, verlustfreien Eindampfen gelöster Substanzen in röhrenförmigen Gefäßen	375
Rona, P., R. Ammon und M. Werner. Asymmetrische Esterbildung und -spaltung durch Schweinepankreas- und -leberesterase	381
Bungenberg de Jong, H. G., W. A. L. Dekker und Ong Sian Gwan. Zur Kenntnis der Komplex-koazervation. III. Mitteilung: Komplexkoazervate unter physiologischen Milieubedingungen	392
Bungenberg de Jong, H. G. und W. A. L. Dekker. Zur Kenntnis der Komplex-koazervation. IV. Mitteilung: Das Verhalten von Komplexkoazervattropfen im elektrischen Felde	403
Meyer, Karl. Über einige Versuche zur Gärung von Hefezellen mit veränderter Durchlässigkeit der Membran. (Vorläufige Mitteilung)	418
Naumann, Hans Norbert. Polarimetrie schwach drehender Lösungen. II.	425
Kapeller-Adler, Regine und Julie Kracl. Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in den Muskeln verschiedener Tierklassen. I.	437
Loewe, S., H. E. Voss, F. Rothschild und E. Borchardt. Über den Nachweis männlichen Sexualhormons (Androkinins) im Harne. Mit Anmerkungen zu der Arbeit von E. Glimm und F. Wadehn in dieser Zeitschrift 219, 155, 1930	461
Hanak, A. Zur Kenntnis der Ameisensäurekonservierung von Fruchtsäften. (Über natürlichen Rückgang des Ameisensäuregehalts in Himbeersäften)	467
Christomanos, Anast. A. Zur Fraktionierung des Reststickstoffs unter pathologischen Bedingungen	473
Anselmino, Karl Julius. Über eine Vereinfachung und Verbesserung der kolorimetrischen Milchsäurebestimmungsmethode von Dische und Laszlo	484
Wolf, C. G. L. Zur Methodik der Kohlenstoffbestimmung im Harn .	488
Krogh, A. und E. Lange. Über die Anwendung von Celluloid, besonders Celluloidröhren im Laboratorium	489
Neuberg, Irene Stephanie. Über eine neue Darstellung von Glycerinaldehyd und Glycerin	492
Warburg, Otto, Fritz Kubowitz und Walter Christian. Kohlenhydratverbrennung durch Methämoglobin. (Über den Mechanismus einer Methylenblaukatalyse).	494
Alt, Howard L., M. D. Über die Atmungshemmung durch Blausäure	498
Autorenverzeichnis	502

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Soeben erschienen:

Die chemischen Vorgänge im Muskel

und ihr Zusammenhang mit Arbeitsleistung und Wärmebildung

Von Professor Otto Meyerhof

Direktor des Instituts für Physiologie
Kaiser Wilhelm-Institut für Medizin, Forschung, Heidelberg

(Bildet Band XXII der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen
und der Tiere“)

Mit 66 Abbildungen. XIV, 350 Seiten. 1930. RM 28.—; geb. RM 29.80

Inhaltsübersicht: Vorbemerkungen. Theoretische Gesichtspunkte. Stoffeinteilung. — I. Atmung und Anaerobiose des Muskels. — II. Die mit der Tätigkeit verbundenen chemischen Vorgänge. — III. Stoffwechsel des Muskelgewebes. — IV. Die chemischen Vorgänge im zellfreien Muskelextrakt. — V. Der Spaltungs- und Oxydationsstoffwechsel der Zellen. — VI. Die chemischen Vorgänge im Zusammenhang mit der Wärmebildung. — VII. Chemische Vorgänge im Zusammenhang mit der Arbeitsleistung. — VIII. Wärmebildung und Arbeitsleistung des Muskels auf Grund myothermischer Messungen. — IX. Ausblicke auf die Theorie der Kontraktion. — X. Methoden. A. Chemische Methoden. Milchsäure. Kohlehydrate. Bestimmung der Phosphorsäurefraktionen. B. Manometrische Methoden. C. Kalorimetrische Methoden. — Literatur.

Soeben erschienen:

Physikalisch-Chemische Probleme in der Chirurgie

Von Dr. C. Häbler

Privatdozent für Chirurgie in Würzburg

Mit 62 Abbildungen. X, 274 Seiten. 1930. RM 19.60

Inhaltsverzeichnis: Teil I. Von den physiko-chemischen Eigenschaften der Körperstoffe und dem Regelungsstoffwechsel. 1. Die osmotischen Verhältnisse im Körper und ihre Regelungen. 2. Die aktuelle Reaktion des Blutes und die Reaktionsregulation. 3. Von den übrigen Ionen des Serums und ihrer Regelung (Na·K·Ca-Isoionie). 4. Die Isothermie. 5. Über Quellungsphysiologie (Isoonkie und Onkodynamik der Capillaren). — Teil II. Physikalisch-chemische Probleme in der Chirurgie. A. Fragen der allgemeinen Chirurgie. 6. Die physikalische Chemie der Entzündung. 7. Physikalisch-chemische Vorgänge bei der Wundheilung. 8. Die postoperativen Störungen der physiko-chemischen Körperkonstanten. 9. Die physikalische Chemie der Narkose. 10. Die physikalische Chemie der Konkrementbildung. 11. Weißes Blutbild und physikalische Chemie. B. Fragen der speziellen Chirurgie. 12. u. 13. Aus dem Gebiet der Erkrankungen des Bindegewebes, des Muskels. 14. bis 17. Aus dem Gebiet der Knochen- und Gelenkerkrankungen, der Magen- und Darmkrankheiten, der Leber- und Gallenkrankheiten, der Nieren- und Harnkrankheiten. — Namenverzeichnis. — Sachverzeichnis.

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Wien, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-Baltimore, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Berlin, F. Verzar-Debreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg=Berlin

Sonderabdruck aus 224. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Julie Krael:

**Untersuchungen über die Stickstoffverteilung
in den Muskeln verschiedener Tierklassen. II.**



Berlin

Verlag von Julius Springer

1930



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *ℳ* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *ℳ* 40.— für den 16 seitigen Druckbogen. Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

224. Band Inhaltsverzeichnis 4.—6. Heft

	Seite
Simon, Ernst. Über das zymatische System und die Wirkungen der Essigbakterien	253
Suminokura, Kunihiko. Über die Laccase des japanischen Lacks.	292
Schewket, Ömer. Eine neue und schnelle Methode zur Bestimmung der Harnsäure	322
— Eine neue Methode in der Alkalimetrie	325
— Über eine neue Methode zum Nachweis von C, H, S in organischen Verbindungen	328
Garry, Gerschon und Moses Puffeles. Zur Frage der Oxalsäureausscheidung bei pathologischen Zuständen.	331
Loureiro, J. Avellar de. Zur Normierung der Trübungswerte bei nephelometrischen Bestimmungen.	337
Keve, Emerich. Über systematische Fehler der spektrophotometrischen Konzentrationsbestimmung in Farbstofflösungen bei gemischtem Lichte	347

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in den Muskeln verschiedener Tierklassen.

II. Mitteilung:

Über die Stickstoffverteilung im Rochen- und Haifischmuskel.

Von

Regine Kapeller-Adler und Julie Krael.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 31. Mai 1930.)

In der ersten Mitteilung¹ dieser Reihe haben wir die Ergebnisse des Studiums der Stickstoffverteilung im alkoholischen Muskelextrakt einiger Säugetiere, ferner des Karpfens, Kabeljaus und Regenwurms zusammengefaßt. Hatte die Untersuchung des Kabeljau- und Karpfenmuskels einen wesentlichen Unterschied in der Zusammensetzung dieser beiden Muskelarten ergeben, so ließ die Betrachtung der Verhältnisse bei den Selachiern, deren Stoffwechsel ein eigentümlicher ist und welche bekanntlich große Harnstoffmengen² in ihren Geweben anhäufen, noch interessantere Resultate erwarten. So dehnten wir unsere Untersuchungen auch auf diese Tiergattung aus.

Zur Verarbeitung gelangten die Muskeln vom Rochen und vom Haifisch, für deren liebenswürdige Beschaffung wir der „Nordsee-Dampffischerei“ zu großem Dank verpflichtet sind.

Die Fische sind im Dezember in Eispackung hier angelangt und wurden sofort aufgearbeitet, um eine weitgehende Zersetzung möglichst hintanzuhalten.

Was die Arbeitsmethoden betrifft, so blieben sie die gleichen, wie sie in der vorhergehenden Mitteilung geschildert worden sind.

Die in großer Menge vorgefundenen Amine wurden gesondert bestimmt und die von beiden Fischmuskeln angefertigten alkoholischen Auszüge einer Verseifung mit starker Lauge unterworfen.

¹ Diese Zeitschr. 221, 437, 1930.

² *Staedler* und *Frerichs*, Journ. f. prakt. Chem. 73, 48, 1858; 76, 58, 1861; *Schröder*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 576, 1890.

R. Kap

D.
Tabell

Zu
muske
Zahler

V
einand
Schwa
fast da
fache
Verseif
des Ha
als das
Verseif
ebenfal
Sechst
des Ro
darstel
extrak
Größen
muskel

We

W
die du
unspez
erlaube

Da
Methyl
guanid
schließ
Methyl
Literat

Vo
extrak

1 A
Kreatin
liefer.

2 J
Franz
Zentral

Bioch

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den folgenden Tabellen niedergelegt.

Zum Vergleich sind die schon früher von uns für den Kabeljaumuskel gefundenen und in der vorhergehenden Mitteilung erwähnten Zahlen angeführt.

Vergleicht man die einzelnen Stickstoffwerte der Tabelle I miteinander, so ergeben sich schon beim Gesamtstickstoff erhebliche Schwankungen. Der Gesamtstickstoff des Haimuskelextrakts beträgt fast das Doppelte desjenigen vom Rochenmuskel und etwa das Vierfache vom Kabeljaumuskel. Ebenso übersteigt die Menge des durch *Verseifung* des *alkoholischen Extrakts* gebildeten *Ammoniakstickstoffs* des Haimuskels um ein Vielfaches diejenige des Rochen- und um mehr als das Zweifache diejenige des Kabeljauskels. Bezüglich des durch *Verseifung* entstandenen *Methylaminstickstoffs* rangiert der Haimuskel ebenfalls an erster Stelle. Ihm folgt der Kabeljaumuskel mit etwa einem Sechstel des Methylaminstickstoffwertes, wogegen die entsprechende Zahl des Rochenmuskels nur einen geringen Bruchteil derjenigen des Hais darstellt. Während die aus der *Verseifung* des Rochen- und Haimuskelextrakts hervorgegangenen *Trimethylaminstickstoffwerte* fast in derselben Größenordnung liegen, ist der entsprechende Wert des Kabeljauskels erheblich niedriger.

Was für Folgerungen lassen nun die eben angeführten Zahlen zu?

Wir haben bereits in der früheren Mitteilung hervorgehoben, daß die durch *Verseifung* erhaltenen Ammoniakstickstoffwerte vollkommen unspezifisch sind und deshalb keinerlei einheitlichen Rückschluß erlauben.

Dagegen kann man aus den durch die *Verseifung* ermittelten *Methylamin*-¹ und *Trimethylaminstickstoffzahlen* auf den Methylguanidin- bzw. auf den Betaingehalt der untersuchten Fischmuskeln schließen. Auf das Vorhandensein beider Substanzen, sowohl des *Methylguanidins* als auch des *Betains* im Fischmuskel deuten zahlreiche Literaturangaben² hin.

Verwertet man die durch *Verseifung* des Rochen- und Haimuskelextrakts gewonnenen Methylamin- und Trimethylaminstickstoffzahlen,

¹ An dieser Stelle soll nochmals hervorgehoben werden, daß weder Kreatin noch Kreatinin beim Erhitzen mit starker Lauge Methylamin liefern.

² *Yoshimura* und *Kanai*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **88**, 346, 1903; *Franz Kutscher* und *D. Ackermann*, Zeitschr. f. Biol. **84**, 181, 1926; *Suwa*, Zentralbl. f. Physiol. **22**, 307, 1908.

so ergeben folgende

100 g

Methylguanin
Betain

Aus
über beiden
Während
des Haim
tiefer.

etwa ein
sprechen

Die
des Karb
Untersch

Die
gebildet
hier ver
muskelw

Kabeljau
Rochen
Haifisch

Der
als der T
jaumusk
des Roch
aminwer
etwas hin
die von
methyla

¹ Zu
Mitteilun
gezogen.

Tabelle I.
100 g feuchten Muskels enthalten:

Art des N	Rochen	Haifisch	Kabeljau
Gesamt-N des alkoholischen Extraktes	0,5430 } 0,5400 } 0,5525 } 0,5451	0,9387 } 0,9597 } 0,9492	0,2210 } 0,2256 } 0,2253
Ammoniak-N	vorgebildet: 0,3399 } durch Verseifung gebildet: 0,0284 } 0,3683	vorgebildet: 0,4197 } durch Verseifung gebildet: 0,1623 } 0,5820	vorgebildet: 0,0316 } durch Verseifung gebildet: 0,0658 } 0,0974
Methylamin-N	vorgebildet: 0,0100 } 0,0097 } 0,0103 } durch Verseifung gebildet: 0,0022 } 0,0024 } 0,0126	vorgebildet: 0,0049 } 0,0043 } 0,0046 } durch Verseifung gebildet: 0,0375 } 0,0352 } 0,0409	vorgebildet: 0,0205 } 0,0215 } 0,0210 } durch Verseifung gebildet: 0,0061 } 0,0053 } 0,0267
Trimethylamin-N	vorgebildet: 0,0292 } durch Verseifung gebildet: 0,0260 } 0,0552	vorgebildet: 0,0270 } durch Verseifung gebildet: 0,0312 } 0,0582	vorgebildet: 0,0383 } durch Verseifung gebildet: 0,0122 } 0,0505
Trimethylaminoxid-N	0,0037	0,0045	0,0031
Unverseifbarer Extraktiv-N	0,1090	0,2681	0,0487

Unverseifbarer Extraktiv-N

so ergeben sich durch Umrechnung auf Methylguanidin bzw. Betain folgende Resultate¹:

Tabelle II.

100 g Muskel enthalten:

	Rochen	Haifisch	Kabeljau	Karpfen
Methylguanidin	0,0120	0,1893	0,0297	0,0078
Betain	0,2173	0,2607	0,1020	0,0142

Aus dieser Tabelle geht vor allem hervor, daß der Haimuskel über bedeutende Mengen *Methylguanidin* und *Betain* zu verfügen scheint. Während der Betaingehalt des Rochenmuskels nicht weit hinter dem des Haimuskels zurücksteht, ist sein Methylguanidinwert ein auffallend tiefer. Der Methylguanidingehalt des Kabeljaumuskels beträgt nur etwa ein Sechstel, der Betaingehalt ungefähr die Hälfte des entsprechenden Wertes des Haifischmuskels.

Die zum Vergleich angeführten Methylguanidin- und Betainwerte des Karpfenmuskels deuten auch in dieser Hinsicht auf einen großen Unterschied zwischen Seefisch- und Flußfischmuskel hin.

Die Mengenverhältnisse des Rochen- und Haimuskels an *vorgebildeten Aminen* haben wir in Tabelle III festgehalten. Es finden sich hier vergleichshalber die von uns gefundenen analogen Kabeljaumuskelwerte wieder.

Tabelle III.

100 g Muskel.

	Ammoniak	Methylamin	Trimethylamin	Trimethylamin- oxyd
Kabeljau	0,0384	0,0465	0,1614	0,0167
Rochen	0,4127	0,0228	0,1231	0,0199
Haifisch	0,5096	0,0102	0,1138	0,0241

Der Selachiermuskel enthält viel mehr *präformiertes Ammoniak* als der Teleostiermuskel (Kabeljau). Dagegen ist der Gehalt des Kabeljaumuskels an vorgebildetem *Methylamin* viel größer als derjenige des Rochen- und des Haifischmuskels. Der von uns ermittelte *Trimethylaminwert* des Hai- und des Rochenmuskels ist fast gleich groß und steht etwas hinter demjenigen des Kabeljaumuskels zurück. Hingegen gehören die von uns für den Selachier- und Teleostiermuskel gefundenen Trimethylaminoxydwerte derselben Größenordnung an.

¹ Zum Vergleich werden auch die entsprechenden, aus unserer ersten Mitteilung stammenden Werte vom Kabeljau- und Karpfenmuskel herangezogen.

F. A. Hoppe-Seyler und W. Schmidt¹ haben eingehende Untersuchungen über den Trimethylaminoxidgehalt des Muskels verschiedener Fischarten angestellt, und zwar haben sie neben zahlreichen Seefischmuskeln, von denen schon früher bekannt war, daß sie Trimethylaminoxid enthalten², auch eine Anzahl Flußfischmuskeln in den Kreis ihrer Untersuchungen einbezogen. Sie konnten unter peinlichster Einhaltung gleicher Arbeitsbedingungen feststellen, daß in den Flußfischmuskeln im Gegensatz zu den Seefischmuskeln weder Trimethylaminoxid noch Trimethylamin vorgebildet vorhanden sind. Am auffallendsten gestaltete sich diese Feststellung bei der Untersuchung des *Seeaals* und des *Flußaals*, von denen der letztere keine Spur Trimethylaminoxid enthält. Daraus geht hervor, daß das Trimethylaminoxid kein charakteristisches Stoffwechselprodukt einzelner Tierfamilien darstellt, sondern daß dessen Auftreten von gewissen Faktoren bestimmt zu werden scheint.

Übrigens konnten wir übereinstimmend mit diesen Feststellungen gelegentlich unserer Untersuchung des Karpfenmuskels im letzteren weder Trimethylaminoxid noch vorgebildetes Trimethylamin finden.

Hoppe-Seyler und Schmidt haben neben dem Trimethylaminoxidgehalt auch die Menge des präformierten Ammoniaks und Trimethylamins einiger Seefische und des Haifisches ermittelt. Methylamin konnten sie nur einmal in geringen Mengen nachweisen. Diese Autoren geben an, daß in 100 g Haifischmuskel 200 mg Ammoniak, 36 bis 50 mg Trimethylamin und 557 mg Trimethylaminoxid enthalten sind. Für andere Seefische führen sie einen Gehalt von 20 bis 25 mg Ammoniak, 7 bis 10 mg Trimethylamin und 70 bis 80 mg Trimethylaminoxid pro 100 g Muskel an.

Vergleicht man nun die von diesen Autoren gefundenen Werte mit den unserigen (siehe Tabelle III), so fällt vor allem der gewaltige Unterschied im *Trimethylaminoxidgehalt* auf. Die von Hoppe-Seyler und Schmidt angegebenen Trimethylaminoxidzahlen übertreffen die von uns gefundenen um ein Vielfaches.

Dagegen kehrt sich das Verhältnis um beim Vergleichen der Trimethylamin- und Ammoniakzahlen. Wir haben sowohl im Selachier- als auch beim Teleostiermuskel viel mehr Trimethylamin und Ammoniak angetroffen als die erwähnten Verfasser.

Schließlich konnten wir nicht unerhebliche Mengen vorgebildeten Methylamins in beiden Muskelarten feststellen.

Wie ist nun die große Diskrepanz zwischen den von Hoppe-Seyler und Schmidt ermittelten und den von uns gefundenen Werten zu verstehen?

Die Erklärung kann lediglich in der Beschaffenheit des untersuchten Materials gesucht werden. Während nämlich die genannten

Stickstoffv

Autoren in
Stunde n:
nur auf to
und in Ei
Endes do
bakterielleSchon
dem Einfl
Ähnliche I
kurzem GSo m
des urspr
suchten S
größte T
gewandeltMit
wir in alle
Seyler unDaß
getroffen v
geringen l
lichen SchSchli
Teleostier
wohl durc
Durch ve
des HarnDie
mit ihm
Seefischer
Fische e
Organism
beide me
läßt sichEine
sicherlich
Gebietes.
Seeteufels
Konzentr

¹ Zeitschr. f. Biol. 87, 1, 1927; Sonderdruck aus den Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg, neue Folge, 53, Heft 1.

² Suwa, Pflügers Arch. 128, 421, 1909.

¹ Pfl
² Ber
³ Jou
⁴ l. c

Autoren in der Lage waren, die Seefischmuskeln spätestens eine halbe Stunde nach dem Tode der Tiere zu verarbeiten, waren wir leider nur auf tote Fische angewiesen. Und wenn auch die letzteren im Winter und in Eis verpackt hertransportiert worden waren, so konnte letzten Endes doch das leicht zersetzliche Material wenigstens teilweise einer bakteriellen oder fermentativen Umwandlung anheimgefallen sein.

Schon *Suwa*¹ konnte nachweisen, daß das Trimethylaminoxid unter dem Einfluß von Bakterien leicht zu Trimethylamin reduziert wird. Ähnliche Beobachtungen haben *Ackermann*, *Poller* und *Linneweh*² und vor kurzem *Grollmann*³ gemacht.

So müssen wir annehmen, daß wir nur noch einen geringen Rest des ursprünglichen Trimethylaminoxidgehalts der von uns untersuchten Seefischmuskeln zu fassen imstande waren, weil weitaus der größte Teil durch einen Reduktionsprozeß in Trimethylamin umgewandelt worden war.

Mit dieser Annahme scheint die Tatsache übereinzustimmen, daß wir in allen Fällen viel mehr Trimethylamin finden konnten als *Hoppe-Seyler* und *Schmidt*.

Daß das *Methylamin* bisher nur vereinzelt im Seefischmuskel angetroffen wurde, ist wohl nur so zu erklären, daß die Bestimmung der relativ geringen Methylaminmengen neben großen Ammoniakmengen mit ziemlichen Schwierigkeiten verbunden ist.

Schließlich wäre noch zu erwähnen, daß die im Vergleich zum Teleostiermuskel sehr hohen Ammoniakwerte des Selachiermuskels wohl durch den großen Harnstoffgehalt dieser Tiere bedingt sein dürften. Durch vermutlich fermentative Zersetzung scheint der größere Teil des Harnstoffs in Ammoniak überzugehen.

Die Frage, ob das Trimethylaminoxid und das stets gemeinsam mit ihm aufgefundene Trimethylamin Stoffwechselendprodukte des Seefischmuskels darstellen und als solche entweder dem Betain dieser Fische entstammen oder durch Methylierung von Ammoniak im Organismus der Seefische erst gebildet werden, oder ob schließlich beide methylierten Basen mit der Nahrung aufgenommen werden, läßt sich zurzeit nicht ohne weiteres beantworten.

Eine vor kurzem erschienene Arbeit von *A. Grollmann*⁴ bedeutet sicherlich einen Fortschritt in der Erforschung dieses noch so dunklen Gebietes. *Grollmann* konnte feststellen, daß der ganz frische Harn des Seeteufels (*Lophius piscatorius*) *Trimethylaminoxid* in einer sehr hohen Konzentration neben geringen Mengen von Kreatin, Kreatinin und Amino-

¹ Pflügers Arch. 128, 421, 1909; 129, 231, 1909.

² Ber. 59, 2750, 1926.

³ Journ. of biol. Chem. 81, 267, 1929.

⁴ l. c.

säuren enthält. Ammoniak, Harnstoff und Harnsäure waren nur in geringem Maße vertreten. Im frischen Harn wurde auch kein Trimethylamin nachgewiesen. Blieb der Harn jedoch längere Zeit stehen, so nahm er eine alkalische Reaktion an und lieferte recht erhebliche Mengen von Trimethylamin. Der Autor nimmt an, daß diese Base, welche sicherlich im frischen Harn nicht vorhanden war, ihre Entstehung einer bakteriellen Reduktion des Trimethylaminoxys verdanke. Weiter gibt der Verfasser seiner Überzeugung Ausdruck, daß — obwohl bis jetzt noch nicht untersucht — auch der Harn anderer Seefische, wie z. B. vom Hai und Hering, Trimethylaminoxid enthalte.

Bezüglich der Entstehung des Trimethylaminoxys vermutet *Grollmann*, daß dieses eines der Endprodukte des Eiweißstoffwechsels darstellt. Er weist auf die Möglichkeit seiner Bildungsweise aus Lecithin oder Betain hin, von welchen das letztere nach den Untersuchungen von *Kutscher* und *Ackermann*¹ im ganzen Tierreich weit verbreitet ist. Andererseits erklärt er es nicht für ausgeschlossen, daß das Trimethylaminoxid direkt mit der Nahrung aufgenommen werden könne, da ja die kleinen Seefische und Crustaceen, von welchen sich der Seeteufel nährt, Trimethylaminoxid enthalten.

Die wichtigste Folgerung, welche sich aus der Arbeit *Grollmanns* ergibt, besteht jedenfalls in der Tatsache, daß das Trimethylaminoxid im tierischen Stoffwechsel nicht stark angegriffen wird und deswegen angeblich als Hauptausscheidungsprodukt im Harn des Seeteufels beobachtet werden konnte. Immerhin dürfte ein, wenn auch nur sehr geringer Teil des Trimethylaminoxys im Seefischorganismus reduziert und entmethyliert werden, denn nur so können die Befunde *Hoppe-Seylers* und *Schmidts*, welche Autoren Trimethylamin auch schon im ganz frischen Seefischmuskel nachweisen konnten, erklärt werden. Auch glückte es *Suwa*², festzustellen, daß das Trimethylaminoxid im lebenden Organismus teilweise entmethyliert werden könne.

Bezüglich der Bildungsmöglichkeit des Trimethylaminoxys aus Betain ist zu erwähnen, daß es *Kohlrausch*³ im Kaninchenversuch tatsächlich gelungen ist, nachzuweisen, daß Betain in Trimethylamin übergehen kann. Letzteres würde dann im Seefischorganismus zu Trimethylaminoxid umgewandelt werden.

In diesem Zusammenhang sei noch einmal hervorgehoben, daß sich der Seefischmuskel gegenüber dem Flußfischmuskel durch einen außerordentlich hohen Betaingehalt auszeichnet, wie klar aus Tabelle II hervorgeht.

Überblickt man also nochmals die Verhältnisse beim Flußfisch- und beim Seefischmuskel, so ergibt es sich zwangsläufig, daß der Unterschied der beiden Muskelarten im hohen Gehalt der Seefische an methylierten Basen begründet ist. Wie schon oben erwähnt, gestaltet sich

¹ l. c.

² l. c.

³ Zeitschr. f. Biol. 57, 273, 1912.

Stickstoff

dieser Ur
Schmidt :

Jede
deutung :
sei es, da
mus ihre
können, :
scheidend

Ziehl
Betracht,
durch ein
organisma
methylier
amin im

Es h
der Seetie
genannten

Auf
Fischen :

1095
trieben u
sauren R
der in de
250 ccm
Gesamtsu

1 ccm

1. 1 ccm

2. 1 ccm

3. 1 ccm

dieser Unterschied am sinnfälligsten bei dem von *Hoppe-Seyler* und *Schmidt* angeführten Beispiel des Fluß- und des Seeaals.

Jedenfalls scheint das äußere Milieu von ausschlaggebender Bedeutung für die Abwicklung der Lebensprozesse der Seetiere zu sein, sei es, daß diese unter dem Einfluß äußerer Bedingungen den Chemismus ihres Stoffwechsels gegenüber der Norm vollkommen verändern können, sei es, daß die Zusammensetzung ihrer Nahrung diese entscheidende Rolle übernimmt.

Zieht man die erste, an sich schwer verständliche Möglichkeit in Betracht, so muß man annehmen, daß der *Organismus der Seetiere durch ein besonders großes Methylierungsvermögen gegenüber dem Flußtierorganismus* ausgezeichnet ist, denn nur so kann es zur Anhäufung von methylierten Basen wie Betain, Trimethylaminoxid und Trimethylamin im Seefischorganismus kommen.

Es hat jedoch wohl mehr für sich, anzunehmen, daß die *Ernährung der Seetiere wenigstens zum größten Teil für das gehäufte Auftreten der genannten Basen maßgebend sei.*

Auf die Klärung dieser Frage gerichtete Fütterungsversuche an Fischen sind in Angriff genommen worden.

Analytische Belege.

I. Untersuchung des Rochenmuskels.

1095 g Rochenmuskel werden durch die Fleischhackmaschine getrieben und mit Alkohol unter Zusatz von Salzsäure bis zur eben kongosauren Reaktion wiederholt extrahiert. Die Aufarbeitung geschieht nach der in der ersten Mitteilung gegebenen Methode. Es werden schließlich 250 ccm eines eiweiß- und phosphatidfreien Extrakts gewonnen, der die Gesamtsumme der vorgebildeten Amine als Chlorhydrate enthält.

1 ccm dieses Extrakts entspricht 4,38 g Muskel.

Gesamtstickstoffbestimmung.

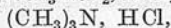
1. 1 ccm Extrakt; 16,99 ccm n/10 Säure	
4,38 g Muskel enthalten.	0,0238 g N
100 g „ „	0,5430 g N
2. 1 ccm Extrakt; 16,89 ccm n/10 Säure	
4,38 g Muskel enthalten.	0,0236 g N
100 g „ „	0,5400 g N
3. 1 ccm Extrakt; 17,29 ccm n/10 Säure	
4,38 g Muskel enthalten.	0,0242 g N
100 g „ „	0,5525 g N
Mittelwert: 100 g Muskel enthalten	0,5451 g N

Bestimmung der präformierten Basen.

Aus 20 ccm Rochenmuskelextrakt (entsprechend 87,6 g Muskel) wurden die vorgebildeten Basen nach *Folin*¹ durch einen Luftstrom bei gewöhnlicher Temperatur ausgetrieben und in 2 n-Salzsäure aufgefangen. Die erhaltenen Chlorhydrate wurden gereinigt und zur Wägung gebracht.



87,6 g Muskel lieferten 1,3562 g CH_3NH_2 , HCl, d. s. 1,5482 g in 100 g Muskel.



87,6 g Muskel lieferten 0,1745 g $(\text{CH}_3)_3\text{N, HCl}$, das sind 0,1992 g in 100 g Muskel,

daraus folgen 0,0292 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff und 0,1231 g Trimethylamin in 100 g Muskel.

87,6 g Muskel ergaben 1,1817 g NH_4Cl
 CH_3NH_2 , HCl, das sind 1,3490 g in 100 g Muskel.

Methylimidanalysen.

1. 20,015 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 87,6 g Muskel lieferten 2,726 mg Ag J.

Daraus berechnen sich 0,0529 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel und 0,0110 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

2. 28,603 mg des Gemenges lieferten 3,438 mg Ag J. Daraus folgen 0,0467 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel und 0,0097 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Mittelwerte: 100 g Muskel enthalten 0,0498 g CH_3NH_2 , HCl, 0,0103 g CH_3NH_2 -Stickstoff und 0,0228 g Methylamin.

Berechnung des Salmiakgehalts.

$$\begin{array}{r} 1,3490 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \text{ in 100 g Muskel,} \\ - 0,0498 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \text{ „ 100 g „} \\ \hline = 1,2992 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in 100 g Muskel.} \end{array}$$

Daraus folgen 0,3399 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Muskel und 0,4127 g Ammoniak in 100 g Muskel.

Verseifung des Muskelextrakts, Trennung und Bestimmung der entstandenen Basen und des Trimethylaminoxids.

Der von den vorgebildeten Basen befreite Extrakt aus 87,6 g Muskel wurde mit 30%iger Lauge verseift. Die entstandenen Amine wurden in 2 n-Salzsäure aufgefangen, das Destillat eingengt und der Rückstand nach erfolgter Reinigung gewogen. Nach der Vertreibung sämtlicher flüchtiger

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 161, 1902/03.

Stickstoffve

Basen wur
aminoxids

87,6 g Musl

87,6 g Mus
Mus

daraus folg

87,6 g Mus

Nach

87,6 g Musl
und 0,0037

1. 12,0

durch Vers
Daraus folg

Stickstoff i

2. 10,0

sich 0,0117
stoff in 10

Mittel

0,0023 g C

Salmic

100 g

destillation
mit 2 n Sa

stand gere

Daru

Trimethyla

1. 15,

hydrat au
0,0239 g C

Basen wurde der Destillationsrückstand zur Bestimmung des Trimethylaminoxids mit Zinkstaub und Natronlauge destilliert.



87,6 g Muskel ergaben 0,2630 g CH_3NH_2 , HCl, d. s. 0,3002 g in 100 g Muskel, $(\text{CH}_3)_3\text{N}$, HCl

87,6 g Muskel ergaben 0,1555 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$, HCl, das sind 0,1775 g in 100 g Muskel,

daraus folgen 0,0260 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff in 100 g Muskel.

87,6 g Muskel lieferten 0,1075 g NH_4Cl , CH_3NH_2 , HCl, d. s. 0,1227 g in 100 g Muskel.

Nach der Zinkstaubdestillation:

87,6 g Muskel ergaben 0,0222 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$, HCl, das sind 0,0199 g $(\text{CH}_3)_3\text{N} = \text{O}$ und 0,0037 g $(\text{CH}_3)_3\text{N} = \text{O}$ -Stickstoff in 100 g Muskel.

Methylimidanalysen.

1. 12,927 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat durch Verseifung aus 87,6 g Muskel entstanden, lieferten 4,090 mg AgJ. Daraus folgen 0,0112 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel und 0,0023 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

2. 10,673 mg des Gemenges lieferten 3,547 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0117 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel und 0,0024 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Mittelwerte: 100 g Muskel enthalten 0,0114 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0023 g CH_3NH_2 -Stickstoff.

Salmiakgehaltsbestimmung:

0,1199 g NH_4Cl , CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel

– 0,0114 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Muskel

= 0,1085 g NH_4Cl in 100 g Muskel und

0,0284 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Muskel.

II. Untersuchung des Haifischmuskels.

Bestimmung der präformierten Basen.

100 g zerkleinerten Haifischmuskels wurden einer Wasserdampfdestillation unterworfen und die entweichenden Dämpfe in einer Vorlage mit 2 n Salzsäure aufgefangen. Das Destillat wurde eingengt, der Rückstand gereinigt und gewogen.

100 g Muskel lieferten 1,8106 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl} \end{array} \right.$

{ 100 g „ „ 0,1840 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$, HCl.

Daraus folgen 0,0270 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff in 100 g Muskel und 0,1138 g Trimethylamin in 100 g Muskel.

100 g Muskel lieferten 1,6266 g NH_4Cl , CH_3NH_2 , HCl.

Methylimidanalysen.

1. 15,702 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 100 g Muskel ergaben 0,8000 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0239 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0049 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

2. 17,550 mg desselben Gemenges lieferten 0,778 mg AgJ. Daraus folgen 0,0208 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0043 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Mittelwerte: 100 g Muskel enthalten 0,0223 g CH_3NH_2 , HCl, 0,0046 g CH_3NH_2 -Stickstoff und 0,0102 g Methylamin.

Salmiakgehaltsberechnung:

$$\begin{array}{r} 1,6266 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \text{ in } 100 \text{ g Muskel,} \\ - 0,0223 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \text{ in } 100 \text{ g Muskel} \\ \hline = 1,6043 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 100 \text{ g Muskel.} \end{array}$$

Daraus folgen 0,4197 g NH_3 -Stickstoff und 0,5096 g Ammoniak in 100 g Muskel.

Darstellung eines alkoholischen Auszuges aus dem Haifischmuskel.

600 g Haifischmuskel wurden zerkleinert und unter Zusatz von verdünnter Salzsäure bis zur eben kongosauren Reaktion mit starkem Alkohol wiederholt extrahiert. Der Extrakt wurde wie sonst üblich verarbeitet. Es wurden 300 ccm eines eiweiß- und phosphatidfreien Auszuges, der auch die Gesamtmenge der vorgebildeten Basen als Chlorhydrate enthält, erhalten. 1 ccm dieses Extrakts entspricht 2 g Haimuskel.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm Extrakt; 13,41 ccm n/10 Säure:

$$\begin{array}{r} 2 \text{ g Muskel enthalten } \dots \dots \dots 0,0188 \text{ g N} \\ 100 \text{ g } \text{,,} \text{,,} \dots \dots \dots 0,9387 \text{ g N} \end{array}$$

2. 1 ccm Extrakt; 13,71 ccm n/10 Säure:

$$\begin{array}{r} 2 \text{ g Muskel enthalten } \dots \dots \dots 0,0192 \text{ g N} \\ 100 \text{ g } \text{,,} \text{,,} \dots \dots \dots 0,9597 \text{ g N} \end{array}$$

Mittelwert: 100 g Muskel enthalten 0,9492 g N.

Verseifung des alkoholischen Auszuges, Trennung und Bestimmung der gebildeten Basen und des Trimethylaminoxyds.

50 ccm Extrakt (entsprechend 100 g Muskel) wurden mit 30%iger Lauge verseift und die überdestillierenden Basen in 2 n Salzsäure aufgefangen. Das Destillat wurde eingengt und der Rückstand nach entsprechender Reinigung gewogen. Das Trimethylaminchlorhydrat wurde mittels Chloroform abgetrennt, der Methylaminchlorhydratgehalt des chloroformunlöslichen Gemenges mittels Methylimidanalyse ermittelt und der Salmiakgehalt aus der Differenz errechnet. Die für den Salmiak, das Monomethylamin- und Trimethylaminchlorhydrat erhaltenen Werte stellen die Summe der vorgebildeten und der durch Verseifung entstandenen Amine dar. Nach Abzug der in der oben beschriebenen, gesondert ausgeführten Bestimmung ermittelten Werte der präformierten Amine wurde der Gehalt der durch Verseifung gebildeten Amine errechnet. Der alkalische Destillationsrückstand wurde zwecks Trimethylaminoxydbestimmung einer neuerlichen Destillation mit Zinkstaub unterworfen.

100 g M

100 g M

Daraus

100 g M

Nach d

0,0241 g (C

1. 30,3
hydrat (Ge
folgenDaraus
2. 29,3
rechnen sic

Daraus folgen 0,0352 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Muskel.

Mittelwerte: 100 g Muskel enthalten

0,1976 g CH_3NH_2 , HCl, Gesamtsumme,
 0,1753 g CH_3NH_2 , HCl, durch Verseifung gebildet, und
 0,0363 g CH_3NH_2 -Stickstoff, durch Verseifung gebildet.

Salmiakgehaltsbestimmung:

2,4220 g $\left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2, HCl \end{array} \right\}$ Gesamtsumme,
 — 0,1976 g CH_3NH_2 , HCl, Gesamtsumme,
 = 2,2244 g NH_4Cl , Gesamtsumme,
 — 1,6043 g NH_4Cl , vorgebildet,
 = 0,6201 g NH_4Cl , durch Verseifung gebildet in 100 g Muskel.

Daraus folgen 0,1623 g NH_3 -Stickstoff, durch Verseifung gebildet in 100 g Muskel.

Zusammenfassung.

1. Es wurden die Muskeln vom Rochen und Haifisch nach den in der ersten Mitteilung gegebenen Methoden untersucht. Der Gehalt an präformierten Basen, wie Ammoniak, Methylamin und Trimethylamin, wurde bestimmt und die aus diesen Muskeln gewonnenen alkoholischen Extrakte einer Verseifung mit starker Lauge unterzogen. Schließlich wurde der Trimethylaminoxidgehalt der Muskeln dieser Fische ermittelt.

2. Die Ammoniak, Trimethylamin- und Trimethylaminoxidwerte wurden mit den von *Hoppe-Seyler* und *Schmidt* angegebenen verglichen. Es ergibt sich hierbei ein krasser Unterschied besonders in den Trimethylamin- und Trimethylaminoxidzahlen, der seinen Grund in der verschiedenen Beschaffenheit des von den beiden Verfassern einerseits und uns andererseits untersuchten Materials haben dürfte.

Wir fanden viel weniger Trimethylaminoxid und viel mehr Trimethylamin als die genannten Autoren, was für die Annahme spricht, daß in unserem Falle das Trimethylaminoxid durch einen bakteriellen oder fermentativen Prozeß größtenteils in Trimethylamin übergegangen ist, zumal die Tiere, wiewohl in Eispackung hier angelangt, erst längere Zeit nach dem Tode untersucht werden konnten.

3. Zum Unterschied von den bisherigen Angaben in der Literatur konnte Methylamin in nicht unbeträchtlicher Menge vorgefunden werden.

4. Die Verseifung der Muskelextrakte vom Rochen und Haifisch ergab ein Gemenge von Aminen, welche quantitativ getrennt und bestimmt wurden und welche Rückschlüsse auf den *Methylguanidin*- bzw. den *Betaingehalt* der untersuchten Muskeln gestatten. Hier sei

noch hervor
höher ist al

5. Das
produkte de
der Seetier
angeblich
Grollmann
konnte.

Eine k
der Seefise

6. Übe
nichts Sich
fische von
stanz zu se
im Gange.

noch hervorgehoben, daß der Betaingehalt des Seefischmuskels erheblich höher ist als derjenige des Flußfischmuskels.

5. Das *Trimethylaminoxyd* scheint eines der wichtigsten Endprodukte des Stoffwechsels der Seefische zu sein. Es wird im Organismus der Seetiere nur zum geringsten Teil angegriffen und erscheint deswegen angeblich als Hauptausscheidungsprodukt im Harn derselben, wie *Grollmann* gelegentlich seiner Untersuchung des Seeteufels feststellen konnte.

Eine kleine Menge des Trimethylaminoxys scheint im Organismus der Seefische entmethyliert zu werden,

6. Über die Entstehung des Trimethylaminoxys läßt sich noch nichts Sicheres aussagen. Jedenfalls scheint das Lebensmilieu der Seefische von ausschlaggebender Bedeutung für die Bildung dieser Substanz zu sein. Auf die Klärung dieser Frage gerichtete Versuche sind im Gange.

Muskel.
bildet in

den in
Gehalt
methyl-
koholi-
Schließ-
Fische

rdwerte
glichen.
en Ti-
in der
nerseits

hr Tri-
spricht,
eriellen
gangen
längere

teratur
funden

[aifisch
it und
midin-
[ier sei

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Seite

Kapeller-Adler, Regine und Julie Krael. Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in den Muskeln verschiedener Tierklassen. II. Mitteilung: Über die Stickstoffverteilung im Rochen- und Haifischmuskel	364
Kapeller-Adler, Regine und Tibor Csató. Über das Auftreten von methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang	378
Rona, P. und Th. Marsson. Untersuchungen über Erepsin. Zur Frage seiner stereochemischen Spezifität und seiner Einheitlichkeit. . .	384
Wüst, Joseph. Ein empfindlicher Thermoregulator mit bequemer Einstellbarkeit auf verschiedene Temperaturen	415
Wada, Mitsunori. Über Citrullin, eine neue Aminosäure im Preßsaft der Wassermelone, <i>Citrullus vulgaris</i> Schrad.	420
Iwata, Motoe. Über das Vorkommen von Lyso-Lecithin in poliertem Reis	430
Bernfeld, A. und E. Schill. Über den Vitamingehalt von Backpulver- und Hefegebäck. Gleichzeitig ein Beitrag zum Vergleich von gefäß- und darmaktiven Hefeextrakten mit Vitaminen aus Hefe	434
Iwatsuru, R., M. Morimoto und M. Tamura. Über eine exakte Mikromethode zur Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmenge im Blute. I.	437
Metzner, P. Über die Abgabe fluoreszierender Stoffe durch quellende Samen und Früchte	448
Faitelowitz, A. Zur Kenntnis des Nikotinabbaus im Tabak.	459
Smorodinzew, I. A. und A. N. Adowa. Bemerkung zur Arbeit von B. Lustig: „Studien über Konzentrierung des Pepsins und den Chemismus seiner Wirkung“	471
Hári, Paul. Über die Natur der Pentose bei chronischer Pentosurie; an der Hand von fünf selbstbeobachteten Fällen.	474
Runehjelm, Dagmar. Mikro-Eisen-Bestimmungen an chlorophylldefekten Blättern	481
Bernfeld, A. Über die Beeinflussung der Histaminwirkung durch Kolloide	487
Neuberg, Carl und Eduard Hofmann. Über einfache Darstellung von Methylglyoxal-lösungen	491
Berichtigung	497
Autorenverzeichnis	498

Biochemisches Handlexikon

Herausgegeben von **Emil Abderhalden**
Geheimer Medizinalrat, Professor Dr. med. et phil. h. c.
Direktor des Physiol. Instituts der Universität Halle a. S.

Vor kurzem erschien der XII. Band (5. Ergänzungsband)

Harnstoff und Derivate — Guanidin — Kreatin — Kreatinin — Amine — Basen mit unbekannter und nicht sicher bekannter Konstitution — Cholin — Betain — Neurin — Muscarin — Stachydrin — Indol und Indolabkömmlinge — Aminosäuren, die im Eiweiß vorkommen — Biologisch interessante Aminosäuren, die im Eiweiß nicht vorkommen — Abbauprodukte von solchen und von im Eiweiß vorkommenden Aminosäuren — Polypeptide — Diketopiperazine.

Bearbeitet von Dr. **Herbert Mahn**, Dessau
Dr. **Ernst Rossner**, Premnitz
Dr. **Hans Sickel** †, Dessau
V, 1103 Seiten. 1930.
RM 136.—; geb. RM 139.—

Aus dem Vorwort:

Seit dem Erscheinen des letzten Ergänzungsbandes (1924), der gleichzeitig das Generalregister der Bände I—XI enthielt, sind über die chemischen, physikalischen und vor allem physiologischen Eigenschaften von Naturprodukten ungewöhnlich viele Mitteilungen erfolgt. Es ist dem einzelnen Forscher kaum mehr möglich, den Überblick über auch nur einen Teil der in der Natur vorkommenden Verbindungen zu behalten. Es erschien deshalb angebracht, das in der Zwischenzeit erschienene, sehr reiche Material zu sichten und in übersichtlicher Form zusammenzustellen. Die Literatur ist bis in die neueste Zeit (1930) hinein berücksichtigt worden. . . .

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Wien, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-Baltimore, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheuert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Berlin, F. Verzar-Debreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Sonderabdruck aus 224. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Tibor Csató:

Über das Auftreten von
methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang



Berlin

Verlag von Julius Springer

1930



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M.* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *M.* 40.— für den 16seitigen Druckbogen. Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

224. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Simon, Ernst. Über das zymatische System und die Wirkungen der Essigbakterien	253
Suminokura, Kunihiko. Über die Laccase des japanischen Lacks. . .	292
Schewket, Ömer. Eine neue und schnelle Methode zur Bestimmung der Harnsäure	322
— Eine neue Methode in der Alkalimetrie	325
— Über eine neue Methode zum Nachweis von C, H, S in organischen Verbindungen	328
Garry, Gerschon und Moses Puffeles. Zur Frage der Oxalsäureausscheidung bei pathologischen Zuständen.	331
Loureiro, J. Avellar de. Zur Normierung der Trübungswerte bei nephelometrischen Bestimmungen	337
Keve, Emerich. Über systematische Fehler der spektrophotometrischen Konzentrationsbestimmung in Farbstofflösungen bei gemischtem Lichte	347

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagsseite.

Über das Auftreten von methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang.

Von

Regine Kapeller-Adler und Tibor Csató.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 31. Mai 1930.)

Die Untersuchung der Seefische, welche ganz auffallende Ergebnisse zur Folge hatte, brachte uns auf den Gedanken, eine ähnliche Untersuchung bei Seepflanzen vorzunehmen.

Was den Stickstoffstoffwechsel der höheren Pflanzen im allgemeinen und unsere Kenntnis über das Vorkommen der flüchtigen Amine in denselben im besonderen betrifft, so liegt eine umfassende und sehr interessante Arbeit von *G. Klein* und *M. Steiner*¹ vor, welche die Vorgänge des Eiweißabbaues in der höheren Pflanze in ein neues Licht rückt.

Anders verhält es sich mit den Beobachtungen bei niederen Pflanzen. Hier existieren nur vereinzelte Angaben über das Auftreten flüchtiger Basen in den letzteren, welche dringend einer Nachforschung und Erweiterung bedürfen.

Bekanntlich läßt sich Trimethylamin im Mutterkorn², weiter im Getreidebrand³, im Fliegenpilz, im Herrenpilz und in der Flechte *Sticta fuliginosa*⁴ nachweisen. *Klebahn*⁵ hat in manchen Blaualgen Methylamin vorgefunden.

Wir haben unter den Seepflanzen den *Seetang* (*Fucus vesiculosus* und *serratus*) zum Gegenstand unserer Untersuchungen gewählt. Auch dieses Untersuchungsmaterial wurde uns liebenswürdigerweise von der „Nordsee-Dampffischerei“ verschafft als jenes pflanzliche Material, welches in den Fangnetzen in größten Mengen hängen geblieben war.

Zunächst wurde das Trockengewicht des Seetangs bestimmt. Hierauf wurde aus einer bestimmten *Fucus*menge ein Extrakt durch

¹ Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. **468**, 4, 1928.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**, 184, 1887.

³ Jahresber. d. Chem. **4**, 479, 1855.

⁴ Ann. 1897, S. 297.

⁵ Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. **61**, 535, 1922.

R. Kap

zweima
Auszieh
im Vak
aufgenc

Es

Natron
ein vor
gebläut
Natron
binnen

Wi

Unterstu
tigen B
peratur
weisen,

Methyl

W:

dieser l

100

Ammoni

Methyla

Trimeth

Es

Ammo
An we
unents

Di

min M

Algen

und z

1 2

2 (

201, 10

zweimaliges Auskochen mit Alkohol und darauf folgendes einmaliges Ausziehen mit Wasser hergestellt. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum von Alkohol und Wasser befreit, der Rückstand in Wasser aufgenommen und auf ein bestimmtes Volumen gebracht.

Es gelang uns nun nachzuweisen, daß aus diesem Extrakt durch Natronlauge schon in der Kälte Basen frei gemacht werden können; ein vorgehaltenes rotes, feuchtes Lackmuspapier wird augenblicklich gebläut. Es genügt sogar, die Pflanze selbst der Einwirkung der kalten Natronlauge auszusetzen, um die Bläuung des roten Lackmuspapieres binnen kurzer Zeit zu erzielen.

Wir unterwarfen sodann den erhaltenen Extrakt einer genaueren Untersuchung, indem wir aus einem aliquoten Teil desselben die flüchtigen Basen nach *Folin*¹ durch einen Luftstrom bei gewöhnlicher Temperatur austrieben und in Salzsäure aufnahmen. Wir konnten nachweisen, daß die erhaltenen Chlorhydrate ein Gemenge von Salmiak, Methylamin- und Trimethylaminchlorhydrat darstellen.

Wir führten auch eine quantitative Trennung und Bestimmung dieser Basenchlorhydrate aus und fanden folgende Mengenverhältnisse:

Tabelle.

100 g Trockensubstanz enthalten:

Ammoniak-N . . .	{	0,1016 0,0881 0,0924	} 0,0940	Ammoniak . . .	0,1142
Methylamin-N . . .	{	0,0078 0,0078 0,0095 0,0053 0,0055	} 0,0072	Methylamin . . .	0,0159
Trimethylamin-N .	{	0,0149 0,0212 0,0246	} 0,0202	Trimethylamin . .	0,0851

Es zeigt sich, daß der Seetang ziemlich beträchtliche Mengen Ammoniak, Methylamin und Trimethylamin in Salzform enthält. An welche Anionen diese Amine im Seetang gebunden sind, bleibt unentschieden.

Die Entstehung dieser Basen läßt sich relativ leicht deuten. *Benjamin Moore*² gibt an, daß bei Fehlen aller anderen Stickstoffquellen Algen imstande sind, den elementaren Stickstoff der Luft zu binden und zu Protoplasmaeiweißkörpern zu verarbeiten. Von den Pflanzen

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 161, 1902/03.

² Chem. Centralbl. 1920, III, 389; Proc. Roy. Soc. London 91, 201, 1920.

weiß man weiter, daß sie sich durch eine außerordentlich große Methylierungsfähigkeit auszeichnen. So könnten auch wohl im Seetang außer Ammoniak methylierte Amine leicht entstehen.

Neben diesen beträchtlichen, in präformiertem Zustande in Salzbindung vorhandenen Basen lassen sich durch Verseifung in dem Material weitere Amine nur in Spuren nachweisen. Ob diese methylierten Basen in der lebenden Pflanze tatsächlich als solche schon vorhanden sind oder ob sie etwa erst postmortalen Veränderungen ihre Entstehung verdanken, vermögen wir zurzeit nicht zu entscheiden, da uns nur totes, wenngleich in Eispackung befindliches Material zur Verfügung stand.

Analytische Belege.

Trockengewichtsbestimmung.

1,8527 g Substanz wurden im Brutschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es resultierten 0,3071 g Trockensubstanz.

100 g feuchter Substanz entsprechen demnach 16,58 g Trockensubstanz.

Darstellung des Extrakts aus Fucus.

255 g feuchten Seetangs (entsprechend 42,29 g Trockensubstanz) wurden zweimal mit 96%igem Alkohol und hierauf einmal mit Wasser extrahiert. Die vereinigten alkoholisch-wässrigen Auszüge wurden im Vakuum eingengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die Lösung vom Ungelösten durch Filtration getrennt. Es wurden schließlich 100 ccm eines wässrigen, grün gefärbten Auszuges erhalten

1 ccm entspricht 0,4229 g Trockensubstanz.

Qualitative Prüfung auf flüchtige Basen.

a) Einige Tropfen des Extrakts wurden auf einem Uhrglas mit einigen Tropfen Natronlauge versetzt, und es wurde rasch ein mit einem feuchten roten Lackmuspapier versehenes Uhrglas darübergestülpt. Nach wenigen Minuten färbte sich das Lackmuspapier intensiv blau.

b) Aus einigen Kubikzentimetern des Extrakts wurden nach *Folin* mittels eines starken Luftstromes die flüchtigen Basen ausgetrieben und in 2 n Salzsäure aufgefangen. Nach dem Einengen wurde der Rückstand gereinigt. Mittels Chloroform ließ sich ein Teil dieses Rückstandes abtrennen, welcher durch Schmelzpunktsbestimmung (271 bis 275°) als Trimethylaminchlorhydrat identifiziert werden konnte. Mit Goldchlorwasserstoffsäure entstand auch ein Goldsalz, dessen Methylimidanalyse auf die Verbindung $(\text{CH}_3)_3\text{N} \cdot \text{HCl} \cdot \text{AuCl}_3$ schließen ließ.

3,604 mg dieses Goldsalzes lieferten 5,945 mg Ag J.

$(\text{CH}_3)_3\text{N} \cdot \text{HCl} \cdot \text{AuCl}_3$. Ber.: 3 CH_3 = 11,28%.

Gef.: 3 CH_3 = 10,56%.

Im chloroformunlöslichen Rückstand wurde neben Chlorammon Methylaminchlorhydrat mittels der Reaktion von *Tsalapatani*¹ nachgewiesen.

¹ Bull. de la soc. de Steinte din Bucuresci 16, 67, 1907.

30 c
im *Folin*
in 2 n S
12,7

Dar
12,7

1. 9
hydrat
0,0378 g
substanz

2. 1
sich 0,0
Trocken-

Mi

Daran

30 c
analog
12,7

Da
12,

Quantitative Bestimmung der präformierten Basen.

30 ccm des Extrakts (entsprechend 12,70 g Trockensubstanz) wurden im Folin'schen Durchlüftungsapparat von den Aminen befreit und diese in 2 n Salzsäure aufgefangen.

12,70 g Trockensubstanz lieferten

$$0,0733 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl} \end{array} \right\} \text{ das sind } 0,5772 \text{ g in } 100 \text{ g Trocken-} \\ \text{substanz.}$$

$$0,0129 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl}, \text{ das sind } 0,1016 \text{ g in } 100 \text{ g Trocken-} \\ \text{substanz.}$$

Daraus folgen 0,0149 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

12,70 g Trockensubstanz lieferten

$$0,0541 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\} \text{ das sind } 0,4260 \text{ g in } 100 \text{ g} \\ \text{Trockensubstanz.}$$

Methylimidanalysen.

1. 9,581 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 12,70 g Trockensubstanz ergaben 2,956 mg AgJ. Daraus folgen 0,0378 g $\text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl}$ und 0,0078 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

2. 10,885 mg des Gemenges lieferten 3,373 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0380 g $\text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl}$ und 0,0078 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 100 g Trockensubstanz enthalten

$$0,0379 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \text{ und} \\ 0,0078 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{-Stickstoff.}$$

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$0,4260 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 100 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0379 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl in } 100 \text{ g Trockensubstanz} \\ = 0,3881 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl in } 100 \text{ g Trockensubstanz.}$$

Daraus ergeben sich 0,1016 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Parallelbestimmung.

30 ccm vom gleichen Extrakt (= 12,70 g Trockensubstanz) wurden analog verarbeitet.

12,70 g Trockensubstanz lieferten

$$0,0734 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl} \end{array} \right\} \text{ das sind } 0,5780 \text{ g in } 100 \text{ g} \\ \text{Trockensubstanz,}$$

$$0,0184 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl}, \text{ das sind } 0,1449 \text{ g in } 100 \text{ g Trocken-} \\ \text{substanz.}$$

Daraus folgen 0,0212 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

12,70 g Trockensubstanz ergaben

$$0,0486 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\} \text{ das sind } 0,3827 \text{ g in } 100 \text{ g Trocken-} \\ \text{substanz.}$$

Methylimidanalyse.

9,565 mg des Gemenges aus 12,70 g Trockensubstanz lieferten 3,993 mg AgJ. Daraus berechnen sich 0,0460 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0095 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakgehaltsbestimmung.

0,3827 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Trockensubstanz

– 0,0460 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Trockensubstanz

= 0,3367 g NH_4Cl in 100 g Trockensubstanz.

Daraus folgen 0,0881 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Paralleluntersuchung vom Seetang (Verseifung).

Aus 145 g Fucus (entsprechend 24,05 g Trockensubstanz) wurde, wie oben beschrieben, ein Extrakt dargestellt. Der erhaltene Auszug wurde unter Zusatz von starker Lauge destilliert, wobei als Vorlage wieder 2 n Salzsäure diente. Die erhaltenen Chlorhydrate wurden wie sonst aufgearbeitet.

24,05 g Trockensubstanz lieferten

0,1315 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}, \text{HCl} \end{array} \right\}$, das sind 0,5468 g in 100 g Trockensubstanz,

0,0404 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$, HCl, das sind 0,1680 g in 100 g Trockensubstanz.

Daraus ergeben sich 0,0246 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

24,05 g Trockensubstanz lieferten

0,0911 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\}$ das sind 0,3789 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen.

1. 10,075 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 24,05 g Trockensubstanz lieferten 2,341 mg AgJ. Daraus folgen 0,0254 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0053 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

2. 13,932 mg des Gemenges ergaben 3,365 mg AgJ. Daraus errechnen sich 0,0264 g CH_3NH_2 , HCl und 0,0055 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 100 g Trockensubstanz enthalten

0,0259 g CH_3NH_2 , HCl und

0,0054 g CH_3NH_2 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakgehaltsbestimmung.

0,3789 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2, \text{HCl} \end{array} \right\}$ in 100 g Trockensubstanz

– 0,0259 g CH_3NH_2 , HCl in 100 g Trockensubstanz

= 0,3530 g NH_4Cl in 100 g Trockensubstanz.

Daraus folgen 0,0924 g NH_3 -Stickstoff in 100 g Trockensubstanz.

1. E
und ser
geführt
Methyla
Salzform
2. E
zum ers
gelegt.
3. V
bezüglich

Zusammenfassung.

1. Es wurde eine Untersuchung von Seetang (*Fucus vesiculosus* und *serratus*) in bezug auf einen etwaigen Gehalt an Aminen durchgeführt und festgestellt, daß sich in diesen Seepflanzen Ammoniak, Methylamin und Trimethylamin in recht beträchtlichen Mengen in Salzform vorfinden.

2. Es wurden auch die Mengenverhältnisse dieser Amine in dem zum ersten Male nach dieser Richtung hin geprüften Seetang festgelegt.

3. Weitere Untersuchungen anderer See- und Süßwasserpflanzen bezüglich ihres Amingehaltes sind im Gange.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

	Seite
Kapeller-Adler, Regine und Julie Krael. Untersuchungen über die Stickstoffverteilung in den Muskeln verschiedener Tierklassen. II. Mitteilung: Über die Stickstoffverteilung im Rochen- und Haifischmuskel	364
Kapeller-Adler, Regine und Tibor Csató. Über das Auftreten von methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang	378
Rona, P. und Th. Marsson. Untersuchungen über Erepsin. Zur Frage seiner stereochemischen Spezifität und seiner Einheitlichkeit	384
Wüst, Joseph. Ein empfindlicher Thermoregulator mit bequemer Einstellbarkeit auf verschiedene Temperaturen	415
Wada, Mitsunori. Über Citrullin, eine neue Aminosäure im Preßsaft der Wassermelone, <i>Citrullus vulgaris</i> schrad.	420
Iwata, Motoe. Über das Vorkommen von Lyso-Lecithin in poliertem Reis	430
Bernfeld, A. und E. Schillf. Über den Vitamingehalt von Backpulver- und Hefengebäck. Gleichzeitig ein Beitrag zum Vergleich von gefäß- und darmaktiven Hefeextrakten mit Vitaminen aus Hefe	434
Iwatsuru, R., M. Morimoto und M. Tamura. Über eine exakte Mikromethode zur Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmenge im Blute. I.	437
Metzner, P. Über die Abgabe fluoreszierender Stoffe durch quellende Samen und Früchte	448
Faitelowitz, A. Zur Kenntnis des Nikotinabbaus im Tabak	459
Smorodinzew, I. A. und A. N. Adowa. Bemerkung zur Arbeit von B. Lustig: „Studien über Konzentrierung des Pepsins und den Chemismus seiner Wirkung“	471
Hári, Paul. Über die Natur der Pentose bei chronischer Pentosurie; an der Hand von fünf selbstbeobachteten Fällen.	474
Runehjelm, Dagmar. Mikro-Eisen-Bestimmungen an chlorophylldefekten Blättern	481
Bernfeld, A. Über die Beeinflussung der Histaminwirkung durch Kolloide	487
Neuberg, Carl und Eduard Hofmann. Über einfache Darstellung von Methylglyoxal-lösungen	491
Berichtigung	497
Autorenverzeichnis	498

Biochemisches Handlexikon

Herausgegeben von **Emil Abderhalden**
Geheimer Medizinalrat, Professor Dr. med. et phil. h. c.
Direktor des Physiol. Instituts der Universität Halle a. S.

Vor kurzem erschien der XII. Band (5. Ergänzungsband)

Harnstoff und Derivate — Guanidin — Kreatin — Kreatinin —
Amine — Basen mit unbekannter und nicht sicher bekannter Kon-
stitution — Cholin — Betain — Neurin — Muscarin — Stachydrin
— Indol und Indolabkömmlinge — Aminosäuren, die im Eiweiß vor-
kommen — Biologisch interessante Aminosäuren, die im Eiweiß nicht
vorkommen — Abbauprodukte von solchen und von im Eiweiß vor-
kommenden Aminosäuren — Polypeptide — Diketopiperazine.

Bearbeitet von Dr. **Herbert Mahn**, Dessau
Dr. **Ernst Rossner**, Premnitz
Dr. **Hans Sickel** †, Dessau
V, 1103 Seiten. 1930.
RM 136.—; geb. RM 139.—

Aus dem Vorwort:

Seit dem Erscheinen des letzten Ergänzungsbandes (1924),
der gleichzeitig das Generalregister der Bände I—XI ent-
hielt, sind über die chemischen, physikalischen und vor
allem physiologischen Eigenschaften von Naturprodukten
ungewöhnlich viele Mitteilungen erfolgt. Es ist dem einzelnen
Forscher kaum mehr möglich, den Überblick über auch nur
einen Teil der in der Natur vorkommenden Verbindungen
zu behalten. Es erschien deshalb angebracht, das in der
Zwischenzeit erschienene, sehr reiche Material zu sichten
und in übersichtlicher Form zusammenzustellen. Die Lite-
ratur ist bis in die neueste Zeit (1930) hinein berück-
sichtigt worden. . . .

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Basel, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewy-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianschnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, F. Verzar-Basel, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby**-Berlin

Sonderabdruck aus 235. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und E. Stern:

**Über die Fraktionierungsversuche von Basengemischen,
insbesondere von Fleischextraktbasen mit Permutit**



Berlin
Verlag von Julius Springer



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19, zu richten.

Das Honorar beträgt *M* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

235. Band	Inhaltsverzeichnis	4.—6. Heft
		Seite
Bleyer, B. und W. Diemair. Zur Kenntnis der pflanzlichen Phosphatide und Lecithine. I. Über ein Phosphatid der Mohrrübe		243
Gorbach, G. und K. Lerch. Über den Einfluß des ultravioletten Lichtes auf die Saccharase. II. Mitteilung: Die Rolle von Tryptophan und Hefegummi		259
Mroczkiewicz, U. Über die tierischen Adeninnucleotide		267
Goigner, Edgar und Wolfgang Pauli. Untersuchungen an elektrolytfreien Proteinen. X. Mitteilung: Elektrochemisch-konstitutive Kennzeichnung von Proteinen mittels der Ag-Aktivität ihrer Silbersalze		271
Weinstein, Paul. Über eigentümliche Schwankungen des Brechungsindex des Hundeblutserums		303
Braunstein, A. E., A. N. Parschin und O. D. Chalisowa. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. I. Mitteilung: Oxydation und Paarung von Phenol und Benzol		311
Epstein, I. S. und A. E. Braunstein. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. II. Mitteilung: Oxydation von Toluol		328

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über die Fraktionierungsversuche von Basengemischen, insbesondere von Fleischextraktbasen mit Permutit.

Von

Regine Kapeller-Adler und E. Stern.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. März 1931.)

*J. C. Whitehorn*¹ behauptet, im Permutit ein sehr brauchbares Reagens für Amine gefunden zu haben. Permutit, ein käufliches, künstliches Aluminiumsilikat, enthält ein aktives, leicht vertretbares Natrium, welches durch verschiedene Basen ausgetauscht werden kann.

Auf Grund dieser Eigenschaft des Permutits gelang es *Folin*², eine quantitative Bestimmungsmethode für Ammoniak im Harne auszuarbeiten, denn er konnte zeigen, daß Ammonium quantitativ durch Permutit absorbiert wird, wenn kein Überschuß an löslichen Natriumsalzen gegenwärtig ist.

Whitehorn prüfte das Verhalten von verschiedenen organischen, mitunter einigen biochemisch wichtigen Basen gegenüber dem Permutit und konnte hierbei feststellen, daß das Natrium nicht nur gegen anorganische, sondern auch gegen *organische Basen* austauschbar ist. Nicht alle organischen Basen werden jedoch von Permutit aufgenommen, sondern nur solche, welche mindestens eine Dissoziation von $5 \cdot 10^{-9}$ aufweisen können. Schwächere Basen, wie z. B. Anilin ($3,1 \cdot 10^{-10}$), werden von Permutit nicht adsorbiert. Bestimmungen der an Permutit adsorbierbaren Basen in streng quantitativem Sinne hat *Whitehorn* allerdings nicht durchgeführt, seine diesbezüglichen Angaben sind in den meisten Fällen nur Schätzungen. Dem verschiedenen Verhalten starker und schwacher Basen gegenüber Permutit Rechnung tragend, glaubt *Whitehorn* im letzteren ein Reagens auf *Amine stark basischer Natur* gefunden zu haben, welche angeblich weitgehend adsorbiert werden.

¹ Journ. of biol. Chem. 56, 751, 1923.

² Ebendasselbst 29, 329, 1917.

R. Kape

Feli
eine Fra
und fan
aufgenor
herbeizu
wie Argi
stellten
so daß
werden
Reaktion
entsprec
des Nat
Gleichun

Da
weiter
andere
adsorbi
Trennu
zu habe
vom K
extraktb
Carniti
Zu
fähigke
Zu
Chlorhy
zu den
von W

Tr
Trimeth
stoffs v
an Per
erhalte
Angabe
W
hydrat
sticksto
Da
stärkst
mußte
Methyl
gegebe

1 2
2 2
3 3

Felix und *Lang*¹ haben unter Einhaltung bestimmter Bedingungen eine Fraktionierung partieller *Eiweißhydrolysate* mittels Permutit versucht und fanden dabei, daß etwa 20% vom Gesamtstickstoff von Permutit aufgenommen werden und daß durch letzteren eine gewisse Fraktionierung herbeizuführen ist. Außerdem studierten sie das Verhalten der Basen, wie Arginin, Histidin, Ornithin und Clupein dem Permutit gegenüber und stellten hierbei fest, daß Ornithin viel stärker adsorbiert wird wie Arginin, so daß beide Basen mittels Permutit weitgehend voneinander getrennt werden können. Im Gegensatz zu *Whitehorn* finden die Autoren, daß die Reaktionen der Basen mit Permutit nicht dem *Massenwirkungsgesetz* entsprechen, sondern die von *Rothmund* und *Kornfeld*² für den Austausch des Natriums im Permutit gegen andere anorganische Basen aufgestellte Gleichung erfüllen.

Da *Whitehorn* anführt, daß starke Basen wie die Alkylamine, weiter Guanidin, Cholin, Lysin von Permutit aufgenommen werden, andere dagegen, wie Kreatin, Kreatinin, Sarkosin, Alanin, Leucin, nicht adsorbiert werden, hofften wir im Permutit ein Mittel zur *quantitativen Trennung verschieden starker Basen* in biologischen Gemischen gefunden zu haben. Vor allem schwebte uns eine Trennung des Methylguanidins vom Kreatin bzw. Kreatinin, weiter eine Fraktionierung der *Fleischextraktbasen mittels Permutit* und insbesondere eine Abtrennung des Carnitins von den schwächeren Basen vor.

Zunächst wollten wir an ganz einfachen Beispielen die Leistungsfähigkeit der Permutitmethode für quantitative Zwecke überprüfen.

Zu diesem Zwecke untersuchten wir die Adsorbierbarkeit der Chlorhydrate vom *Trimethylamin* und *Diäthylamin*, welche Stoffe zu den stärksten Basen gezählt werden. Wir bedienten uns hierbei der von *Whitehorn* angegebenen Arbeitsweise.

Trotz Variierung verschiedener Bedingungen konnten wir beim Trimethylaminchlorhydrat bestenfalls 25,51% des Trimethylaminstickstoffs und beim Diäthylaminsalz 26,13% des Diäthylaminstickstoffs an Permutit adsorbiert vorfinden. Der beim Trimethylaminversuch erhaltene Wert deckt sich übrigens vollkommen mit einer diesbezüglichen Angabe von *Vickery* und *Bucher*³.

Wir prüften weiter die Adsorbierbarkeit von Guanidinchlorhydrat an Permutit. In diesem Falle wurden 44,67% des Guanidinstickstoffs von Permutit aufgenommen.

Da also trotz vielen Bemühens die Adsorbierbarkeit auch der stärksten Basen an Permutit nicht quantitativ gestaltet werden konnte, mußte die Hoffnung auf die quantitative Trennungsmöglichkeit des Methylguanidins vom Kreatin bzw. Kreatinin auf diesem Wege aufgegeben werden.

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 182, 125, 1929.

² Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem. 103, 129, 1918; 108, 216, 1919.

³ Journ. of biol. Chem. 83, 1, 1929.

Nun sollte die Verwendbarkeit des Permutits zu einer eventuellen *Fraktionierung des Fleischextrakts*, vor allem aber zur Abtrennung des Carnitins von den anderen basischen Extraktstoffen untersucht werden.

Als Ausgangsmaterial diente ein aus Pferdemuskel nach einer bestimmten Vorschrift¹ gefertigter Auszug, welcher nur die in Alkohol leicht löslichen Stoffe, insbesondere das gesamte Carnitin enthalten mußte. Bei der Aufarbeitung dieses Materials hielten wir uns an die von *Felix* für die Permutitfraktionierung von Eiweißhydrolysaten gegebene Vorschrift. Der Extrakt wurde durch sechs Röhren, die mit je etwa 50 g Permutit versehen worden waren, filtriert und diese Prozedur dreimal jeweils mit frischem Permutit wiederholt. Es wurde so oft filtriert, bis festgestellt werden konnte, daß der Permutit nichts mehr aufnahm.

Von 15,51 g Gesamtstickstoff wurden im ganzen 1,54 g, also rund 10% vom Permutit aufgenommen.

Die an Permutit adsorbierten Basen wurden durch eine gesättigte Kaliumchloridlösung und weiter mit Natronlauge extrahiert und ein aliquoter Teil dieses Auszuges einer Verseifung mit 30%iger Lauge unterworfen. Die bei der Verseifung entstandenen flüchtigen Basen wurden in verdünnter Salzsäure aufgefangen, die entstandenen Chlorhydrate eingeeengt und voneinander getrennt. Das Carnitin, auf welches das Hauptaugenmerk gerichtet war, mußte bei Behandlung mit 30%iger Lauge Trimethylamin liefern.

Nun wurde aber bei dieser Verseifung eine kaum wägbare Menge Trimethylaminchlorhydrat erhalten, so daß man schließen mußte, daß nur ein Bruchteil des im Muskel vorhandenen Carnitins trotz der häufigen Filtration über den in großem Überschuß vorhandenen Permutit von letzterem aufgenommen worden war.

Weitere in dieser Richtung geplante Untersuchungen wurden daher als aussichtslos abgebrochen.

Analytische Belege.

I. Trimethylaminchlorhydrat.

0,1005 g Trimethylaminchlorhydrat, entsprechend 0,0147 g Stickstoff, wurden nach *Whitehorn* filtriert. Der Permutit wurde gewaschen und das absorbierte Trimethylaminchlorhydrat mit einer gesättigten Kaliumchloridlösung extrahiert. Aus der Extraktionsflüssigkeit wurde das Trimethylamin mit Wasserdampf abgetrieben. 2,68 ccm n/10 Säure wurden zur Absorption des abdestillierenden Trimethylamins verbraucht.

Dies entspricht 0,0037 g N, d. h. 25,51% Trimethylaminstickstoff wurden von Permutit aufgenommen.

¹ *Kapeller-Adler u. Krael*, diese Zeitschr. 221, 437, 1930.

II. Diäthylaminchlorhydrat.

0,0925 g Diäthylaminchlorhydrat, entsprechend 0,0118 g N, wurden wie I. verarbeitet. 2,21 ccm n/10 Säure verbraucht. 0,0031 g N wurden vom Permutit absorbiert, d. s. 26,13% des Diäthylaminstickstoffs.

III. Guanidinchlorhydrat.

0,0905 g Guanidinchlorhydrat, entsprechend 0,0398 g N, wurden wie I. verarbeitet. Nach der Extraktion des Permutits mit Kaliumchlorid wurde der Extrakt kjeldahlisiert. 12,7 ccm n/10 Säure wurden verbraucht, d. s. 0,0178 g Stickstoff, somit wurden 44,67% des Guanidinstickstoffs vom Permutit aufgenommen.

IV. Aufarbeitung von Fleischextrakt mit Permutit.

10000 g Pferdemuskel wurden nach bestimmter Vorschrift¹ aufgearbeitet. Man erhielt so 500 ccm eines eiweiß- und phosphatfreien Extrakts. 1 ccm dieses Auszuges entspricht somit 20 g Pferdemuskel.

Der Stickstoffgehalt von 1 ccm Extrakt beträgt 0,0388 g.

400 ccm dieses Extrakts (8000 g Muskel) vom Gesamtstickstoff 15,51 g wurden durch sechs Röhren, welche mit je 50 g Permutit beschickt worden waren, filtriert und diese Prozedur jeweils mit frischem Permutit so oft wiederholt, bis der Gesamtstickstoff des Filtrats annähernd gleich blieb, bis also vom Permutit nichts mehr aufgenommen wurde. Insgesamt wurde viermal filtriert. Der Permutit wurde hierauf gewaschen, zuerst mit einer gesättigten Kaliumchloridlösung, sodann mit Natronlauge zerlegt und auf ein Volumen von 2000 ccm gebracht. Ein aliquoter Teil dieser Extraktionsflüssigkeit wurde kjeldahlisiert.

Im ganzen wurden vom Permutit 1,54 g Gesamtstickstoff aufgenommen, d. s. 9,92% des im ursprünglichen Extrakt vorhandenen Stickstoffs.

Ein anderer, beträchtlicherer Teil der Extraktionsflüssigkeit wurde mit 30%iger Lauge verseift und die überdestillierenden Basen in verdünnter Salzsäure aufgefangen. Die Chlorhydrate wurden zur Trockne gebracht und das Trimethylaminchlorhydrat mit Chloroform ausgezogen. Es resultierte eine sehr kleine, kaum wägbare Menge Trimethylaminchlorhydrat.

¹ Kapeller-Adler u. Krael, l. c.

<i>Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.</i>	Seite
Braunstein, A. E. und A. N. Parsehin. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. III. Mitteilung: Säurebasenhaushalt, vegetatives Nervensystem und die Oxydation und Paarung von Phenol	334
— — Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. IV. Mitteilung: Einfluß der Diurese auf das Schicksal von Phenol im Organismus	344
Täufel, K. und G. Gamperl. Über die Sterine der Gerste und ihrer Mälzungsprodukte	353
Hjorth-Hansen, Sverre. Zur Relation zwischen Bodenreaktion und chemischer Zusammensetzung des Hafers (<i>Avena sativa</i>). Orientierende Untersuchungen mit Goldregenhafer	359
Scharrer, K. und W. Schropp. Über die Wirkung der Saponine bei der Schweinemast	367
Kapeller-Adler, Regine. Über das Verhalten verschiedener organischer Stickstoffverbindungen in der Kalischmelze und über einen Apparat zur Bestimmung dabei auftretender flüchtiger Basen	375
Kapeller-Adler, Regine und E. Stern. Über die Fraktionierungsversuche von Basengemischen, insbesondere von Fleischextraktbasen mit Permutit	390
Kapeller-Adler, Regine und Julie Kracl. Über das Schicksal der mit der Nahrung aufgenommenen Alkylamine und über deren angebliche Entmethylierung im Organismus sowie über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn	394
Schroeder, H. und F. Herrmann. Über die Kohlenhydrate und den Kohlenhydratstoffwechsel der Laubblätter. I. Mitteilung: Die Zunahme des Saccharosegehaltes beim Welken	407
Mutzenbecher, P. v. Untersuchung der bei Serumelektrodialyse auftretenden Eiweißfraktionen mit der Ultrazentrifuge	425
Kuroya, Masahiko. Bildung und Umwandlung von Methylglyoxal durch Fermente der Tuberkel- und der Timothee-bazillen	438
— Bildung von Methylglyoxal durch das wasserlösliche Ferment des Rattensarkoms	444
— Nachweis und quantitative Bestimmung der Lactose im Harn	447
Scheffer, Josef. Über die Verteilung des Cholesterins zwischen Blutkörperchen und Plasma unter dem Einfluß der Blutgase	451
Schiff, F. und G. Weiler. Fermente und Blutgruppen. I.	454
Sternberg, W. F. Über den Chlorgehalt des Blutes denervierter Gewebe	466
Cosack, Gert. Aktivierung und Stabilisierung von Pankreasdiastase durch Hämatin	469
Lutwak, C. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. X. Mitteilung: Über die Ammoniakbildung, welche den Zuckungen jodessigsäurevergifteter Muskel entspricht	485
Virtanen, Arturi I. Zur Spezifität der α -Glucosidasen. Bemerkung zu der Mitteilung von R. Weidenhagen	490
Autorenregister	492

Soeben erschien:

Nieren und ableitende Harnwege

Bearbeitet von

Prof. Dr. **F. Volhard**

Frankfurt a. M.

Prof. Dr. **F. Suter**

Basel

(„Handbuch der inneren Medizin“, zweite Auflage, herausgegeben von G. v. Bergmann, Berlin, und R. Staehelin, Basel, Band VI)

I. Teil. Mit 93 zum Teil farb. Abbildungen. XIII, 1023 Seiten. 1931
Gebunden RM 98.—

II. Teil. Mit 205 zum Teil farb. Abbildungen. III, 1113 Seiten. 1931
Gebunden RM 99.60

Beide Teile werden nur zusammen abgegeben

Inhaltsübersicht: Die **doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen**. Von Prof. Dr. F. Volhard, Frankfurt a. M. Physiologie der Nierenfunktion. Pathologische Physiologie der Nierenfunktion. Die Wassersucht. Die Veränderungen am Herzen und am Gefäßapparat. Die Urämie. Die Albuminurie. Geschichte und Einteilung der hämatogenen Nierenerkrankungen. Die Nephrosen, die primären Parenchym- und Mesenchymdegenerationen. Die diffuse Glomerulonephritis. Die infektiösen Herd-Nephritiden. Die Sklerosen. — Die **ein- und beidseitig auftretenden Nierenerkrankungen** (sogenannte chirurgische Nierenaffektionen). Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Allgemeiner Teil. Spezieller Teil. — **Erkrankungen der Blase, der Prostata, der Hoden und Nebenhoden, der Samenblasen. Funktionelle Sexualstörungen**. Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Erkrankungen der Harnblase. Erkrankungen der Prostata. Erkrankungen der Hoden, Nebenhoden, Samenblasen. Die funktionellen Störungen der männlichen Sexualorgane. — Literatur. — Namen- und Sachverzeichnis.

Vorlesungen über funktionelle Pathologie und Therapie der Nierenerkrankungen.

Von Dr. Baron Alexander v. Korányi, o. ö. Professor, Direktor der III. Medizinischen Klinik der K. Ung. Pázmán Peter Universität der Wissenschaften in Budapest. Mit 37 Abbildungen. VIII, 330 Seiten. 1929.

RM 24.—; gebunden RM 26.80

Lehrbuch der Urologie und der chirurgischen Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane.

Von Prof. Dr. Hans Wildbolz, Chirurgischer Chefarzt am Inselspital in Bern. (Aus: „Enzyklopädie der klinischen Medizin“, Spezieller Teil.) Mit 183 zum großen Teil farbigen Textabbildungen. VIII, 546 Seiten. 1924.

RM 36.—; gebunden RM 38.40

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Basel, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, F. Verzar-Basel, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 235. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler:

Über das Verhalten verschiedener organischer
Stickstoffverbindungen in der Kalischmelze und über einen
Apparat zur Bestimmung dabei auftretender flüchtiger Basen



Berlin

Verlag von Julius Springer

1931



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *ℳ* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtungstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber
Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derflingerstr. 19,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *ℳ* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

235. Band	Inhaltsverzeichnis	4.—6. Heft	Seite
Bleyer, B. und W. Diemair. Zur Kenntnis der pflanzlichen Phosphatide und Lecithine. I. Über ein Phosphatid der Mohrrübe			243
Gorbach, G. und K. Lerch. Über den Einfluß des ultravioletten Lichtes auf die Saccharase. II. Mitteilung: Die Rolle von Tryptophan und Hefegummi			259
Mroczkiewicz, U. Über die tierischen Adennucleotide			267
Goigner, Edgar und Wolfgang Pauli. Untersuchungen an elektrolytfreien Proteinen. X. Mitteilung: Elektrochemisch-konstitutive Kennzeichnung von Proteinen mittels der Ag-Aktivität ihrer Silbersalze			271
Weinstein, Paul. Über eigentümliche Schwankungen des Brechungsindex des Hundeblytserums			303
Braunstein, A. E., A. N. Parsehin und O. D. Chalisowa. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. I. Mitteilung: Oxydation und Paarung von Phenol und Benzol			311
Epstein, I. S. und A. E. Braunstein. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. II. Mitteilung: Oxydation von Toluol			328

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über das Verhalten verschiedener organischer Stickstoffverbindungen in der Kalischmelze und über einen Apparat zur Bestimmung dabei auftretender flüchtiger Basen.

Von
Regine Kapeller-Adler.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. März 1931.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die bei der Verseifung stickstoffhaltiger Extrakte tierischer oder pflanzlicher Herkunft mit starken Alkalien entstehenden Basen erlauben oft wichtige Rückschlüsse auf den Charakter der Bestandteile dieser Extrakte. Die meisten dieser Verseifungsprozesse sind jedoch sehr langwierig und nehmen häufig viele Tage in Anspruch.

Es lag nahe anzunehmen, daß derartige Verseifungsvorgänge durch den Ersatz der *wässrigen Alkalien* durch *geschmolzene* und durch Steigerung der Temperatur wesentlich abgekürzt werden könnten.

Zunächst mußte ein Apparat konstruiert werden, welcher eine schnelle und möglichst quantitative Abspaltung und Bestimmung von Ammoniak und Alkylaminen — um diese Basen handelt es sich ja vor allem bei der Verseifung von stickstoffhaltigen Extrakten im alkalischen Medium — mittels schmelzender Alkalien gestattet.

Diesem Problem wurde durch folgende Methodik Rechnung getragen. Das Prinzip der letzteren beruht darauf, daß die stickstoffhaltige Untersuchungssubstanz in einem eigens zu diesem Zweck hergestellten Messingapparat mit einem im Überschuß vorhandenen Gemenge von festem Ätzkali und Ätznatron auf 220 bis 280° erhitzt wird und die hierbei abgespaltenen Basen wie Ammoniak oder Alkylamine durch einen kräftigen Luftstrom in die mit gemessenen überschüssigen Mengen $n/10$ Säure versehenen Vorlagen getrieben werden. Nach beendeter Reaktion wird der Überschuß der $n/10$ Säure mit $n/10$ Lauge zurücktitriert.

Nun möge die Beschreibung der Apparatur folgen:

Der eigentliche Apparat A^1 , in welchem die Kalischmelze ausgeführt wird, besteht aus einem Gefäß aus Messing von 2 mm Wandstärke, 25 mm Lumen und etwa 10 cm Höhe. Am oberen Außenrand trägt das Gefäß ein Gewinde. D stellt einen auf das Gefäß A aufschraubbaren, in der Mitte kreisförmig ausgeschnittenen Deckel dar, welcher auf der Innenseite ein Gewinde trägt und auf A durch Dazwischenschaltung der Metalleinlage E gasdicht aufgesetzt werden kann. Diese Metalleinlage wird von zwei Messingröhren von 3 mm Lumen, dem Einleitungsrohr R_1 und dem Ableitungsrohr R_2 durchstoßen. Beide Röhren sind eingelötet und werden durch den

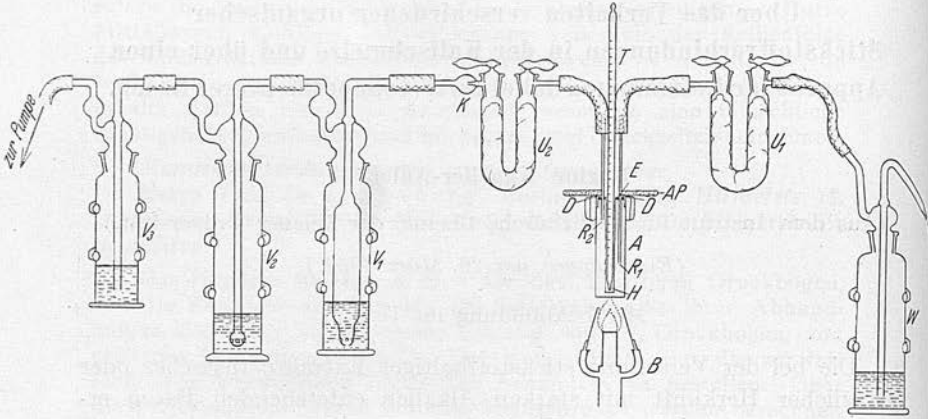


Abb. 1.

zu diesem Zwecke ausgeschnittenen Deckel D durchgesteckt. R_1 reicht 6 cm in das Gefäß und mündet frei, R_2 reicht nur 1 cm von der Metalleinlage E abwärts und mündet ebenfalls frei. Oberhalb des Deckels ragen die beiden Röhren 10 cm aufwärts und sind durch zwei Oliven, welche zur Aufnahme der Schläuche dienen, abgeschlossen.

In der Mitte wird die Einlage E vom Messingrohr H durchstoßen, welches oben offen, unten geschlossen ist und ein Lumen von 8 mm besitzen muß, da es als Hülse für das Thermometer T dient. Über den Deckel des Apparats wird eine in der Mitte ausgeschnittene Asbestplatte AP gestülpt, um die Schläuche vor dem Anbrennen zu schützen.

Die Waschflasche W ist mit verdünnter Schwefelsäure zwecks Reinigung der eintretenden Luft von Ammoniak beschickt. Die Röhren U_1 und U_2 werden mit Watte gefüllt und sollen das Überspritzen von Flüssigkeit in den Schmelzapparat bzw. in die Vorlagen verhindern.

Die Vorlagen V_1 und V_2 werden mit gemessener $n/10$ Säure und wenigen Tropfen Methylrot versehen. Die Vorlage V_3 ist mit destilliertem Wasser und einem Tropfen Methylrot beschickt und dient bloß als Sicherheitsflasche, um Verluste durch eventuelles Überreißen der Säure aus V_1 und V_2 in die Pumpe zu vermeiden. Sämtliche Verbindungen werden durch dickwandige Gummischläuche bewerkstelligt.

¹ Der Apparat wird vom Universitätsmechaniker *Franz Castagna*, Wien IX, Schwarzspanierstraße (Physiologisches Institut), hergestellt.

Die Erhitzung ist eine direkte und wird durch den regulierbaren, mit einem Dach versehenen Brenner *B* besorgt.

Die Leistungsfähigkeit dieses Apparates wurde an verschiedenen Testsubstanzen erprobt und befriedigend gefunden.

Da dieser Apparat in erster Linie der Untersuchung biologischen Materials dienstbar gemacht werden sollte, war es von Interesse, das Verhalten verschiedener physiologisch wichtiger Substanzen, welche Bausteine tierischer und pflanzlicher Stoffe darstellen, der Kalischmelze gegenüber zu studieren.

Worin besteht nun das Wesen der Kalischmelze? Der Hauptsache nach handelt es sich hierbei um eine durch Zersetzung des Wassers bedingte gleichzeitige Sauerstoff- und Wasserstoffentwicklung. Die Wirkung der Kalischmelze kann somit eine oxydierende oder eine reduzierende sein, manchmal kommen beide Wirkungen zur Geltung.

Bei der Verseifung der meisten stickstoffhaltigen organischen Substanzen mittels schmelzender Alkalien kommt es darauf an, den Stickstoff zu Ammoniak zu reduzieren. Es wird also bei dieser Methode nur die Reduktionskraft der Kalischmelze verwertet, und in manchen Fällen ist es notwendig, die gleichzeitige Sauerstoffwirkung der Kalischmelze, welche der Reduktion entgegenarbeitet, durch geeignete Zusätze zu paralysieren. Zur genauen Untersuchung wurden verschiedenen Gruppen zugehörige Stoffe der Kalischmelze unterworfen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung seien in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Entsprechend diesen Ergebnissen kommt man zu dem Schluß, daß nicht alle stickstoffhaltigen Stoffe sich in der Kalischmelze vollkommen gleichartig verhalten, ja es treten sogar innerhalb der gleichen Gruppe große Unterschiede auf.

In der *Aminosäurengruppe* spalten die meisten untersuchten Stoffe bis auf Leucin, Lysin und Taurin ihren Stickstoff quantitativ ab. Ebenso verhalten sich die *Trimethylaminderivate*, wie Betain, Cholin und Neurin, welche Substanzen mit geschmolzenen Alkalien behandelt, ihren Stickstoff in Gestalt von Trimethylamin vollkommen abgeben. Dagegen halten *Harnstoff*, *Kreatin* und *Kreatinin* wie auch die *Purine* Harnsäure, Guanin und Kaffein einen Teil ihres Stickstoffs hartnäckig zurück. Das *Glucosamin* liefert in der Kalischmelze quantitative Ergebnisse. Ebenso konnte beim *Adrenalin*, *Coniin* und *Morphin* mit schmelzenden Alkalien eine quantitative Stickstoffabspaltung erzielt werden. *Histidin* und *Histamin* jedoch, sowie das *Prolin* und *Tryptophan* verhielten sich der Kalischmelze gegenüber ziemlich resistent.

Welche Gründe könnten nun für das verschiedene Verhalten vieler stickstoffhaltiger organischer Verbindungen in der Kalischmelze vorgebracht werden?



Tabelle.

Gruppe	Untersuchte Stoffe	Maximale Abspaltung des Stickstoffs	
		Ohne Zusatz	Mit Zusatz ¹
Aminosäuren und Derivate	Glykokoll	quantitativ	
	Alanin	"	
	Amidovaleriansäure		quantitativ
	Leucin	26,64 %	45,61 %
	Argininkarbonat		quantitativ
	Lysinchlorhydrat		76,76 %
	Asparaginsäure		quantitativ
	Taurin		79,02 %
	Cystin		quantitativ
	Hippursäure	quantitativ	
Trimethylamin-derivate	Tyrosin		quantitativ
	Adrenalin		"
	Betainchlorhydrat	quantitativ	
Harnstoff- und Guanidinderivate	Cholinchloroplatinat	"	quantitativ
	Neurinchloroplatinat		
	Harnstoff	61,43 %	84,01 %
Purine	Kreatin	69,67 %	78,26 %
	Kreatinin	68,34 %	70,35 %
	Harnsäure	59,53 %	70,81 %
Hexosamine	Guaninchlorhydrat		53,23 %
	Kaffein		81,42 %
Pyrrolidinderivate	Glukosaminchlorhydrat		quantitativ
Imidazolderivate	Prolin	43,47 %	65,90 %
	Histamindichlorhydrat	19,85 %	56,92 %
Indolderivate	Histidinmonochlorhydrat	31,57 %	43,94 %
	Tryptophan		52,23 %
Alkaloide	Coniimbromhydrat		quantitativ
	Morphin		"

¹ Bei Stoffen, welche in der Kalischmelze nicht ihren gesamten Stickstoff abgeben, wurde letztere zwecks Erhöhung ihrer Reduktionskraft mit Zusätzen wie Kaliumsulfid, Eisen oder Zink versehen.

Überblickt man die Reihe der Substanzen, welche mit geschmolzenen Alkalien nur teilweise ihren Stickstoff abspalten, so findet man, daß es sich hierbei vor allem um Stoffe, denen *stickstoffhaltige Ringsysteme* zugrunde liegen, handelt. Als solche sind die Imidazolderivate, das Histamin und Histidin, der Pyrrolidinabkömmling, das Prolin, das Indolderivat, Tryptophan und die Purine zu nennen.

Das Kreatinin enthält übrigens auch einen stickstoffhaltigen Ring, der in der Kalischmelze nicht vollkommen aufspaltbar ist. Daß das Kreatin ebenfalls nur teilweise seinen Stickstoff abgibt, ist scheinbar darauf zurückzuführen, daß es in der Kalischmelze in Kreatinin übergeht.

Isozyklische stickstoffhaltige Stoffe, bei denen sich der Stickstoff also nicht im Ring befindet, geben bei der Behandlung mit schmelzenden

Verhalte
Alkali
suchung
Da
spalten
Au
schmelz
Resulta
Kalisch
letztere
Be
zu Rin
Sc
Be
Alkali
aus de
reduzie
viel hö
erzielt
Es
und W
bestimm
lage di
die Be
Das V
langen,
aber de
Es
entspre
kali un
der Te
zielten
Ätznat
Natr
der An
und W
Wert
daß di
werde
worden
Alakre
den G
bei E
von V
Verfah
heit g

Alkalien ihren ganzen Stickstoff, wie es sich einwandfrei aus der Untersuchung von Hippursäure, Tyrosin und Adrenalin ergibt, ab.

Das Piperidinderivat Coniin und das Phenanthrenderivat Morphin spalten mit geschmolzenen Alkalien den gesamten Stickstoff ab.

Auffallend ist das Verhalten von *Harnstoff* gegenüber der Kalischmelze. Die konstant trotz verschiedener Zusätze zu niedrig liegenden Resultate lassen sich vielleicht nur dahin erklären, daß während der Kalischmelze cyansaures bzw. cyanursaures Alkali entstehen, welches letzteres laut Angaben der Literatur selbst bei Rotglut unzersetzt bleibt.

Beim *Leucin* und *Lysin* kann es in der Kalischmelze vielleicht zu Ringschlüssen kommen.

Schwer verständlich ist dagegen das resistente Verhalten des *Taurins*.

Bei allen oben erwähnten Stoffen, welche mit geschmolzenen Alkalien nur teilweise ihren Stickstoff abspalten, konnten — wie es aus der Tabelle klar hervorgeht — durch Verwendung passender reduzierender Zusätze, wie Kaliumsulfid, Zinkstaub oder Eisenpulver viel höhere, in manchen Fällen der Theorie sich nähernde Resultate erzielt werden.

Es soll hier nicht unerwähnt bleiben, daß, wie bekannt, *Varrentrapp* und *Will*¹ im Jahre 1841 eine Methode zur quantitativen Stickstoffbestimmung in organischen Substanzen ausgearbeitet haben, deren Grundlage die Zersetzbarkeit dieser Stoffe mit Natronkalk bei Rotgluthitze und die Bestimmung des gebildeten Ammoniaks als Platindoppelsalz bildet. Das Verfahren ist ziemlich umständlich, weil die Verbrennung in einer langen, mit Natronkalk gefüllten Röhre vorgenommen werden muß, soll aber den Autoren zufolge gute Resultate liefern.

Es wurde nun in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen, entsprechend der Methode von *Varrentrapp* und *Will* das Gemenge von Ätzkali und Ätznatron durch Natronkalk zu ersetzen, jedoch unter Einhaltung der Temperatur der Kalischmelze. Die bei dieser Versuchsanordnung erzielten Ergebnisse blieben die gleichen wie bei der Verwendung des Ätzkali-Ätznatrongemisches. Bei der Temperatur von 220 bis 280° bietet also der Natronkalk gegenüber dem oben erwähnten Gemisch keinen Vorteil. Von der Anwendung höherer Temperatur, z. B. Rotgluthitze, wie sie *Varrentrapp* und *Will* vorschreiben, wurde hingegen Abstand genommen, da großer Wert auf die Erhaltung der Alkylamine gelegt wird und es bekannt ist, daß die letzteren insbesondere das Trimethylamin bei Rotgluthitze zersetzt werden. Übrigens ist die *Varrentrapp-Will*sche Methode öfters² angegriffen worden. So geben *Rütthausen* und *Kreusler* beim *Leucin*, *Salkowski* beim *Alakreatin*, *Seegen* und *Nowack* bei der *Kynurensäure*, *Strecker*, *Rathke* bei den Guanidin- und Biguanidverbindungen und schließlich viele Autoren bei Eiweißstoffen an, zu wenig Stickstoff gefunden zu haben. Die Methode von *Varrentrapp* und *Will* ist durch das *Dumassche* und das *Kjeldahl*-Verfahren ganz verdrängt worden und ist nunmehr vollends in Vergessenheit geraten.

¹ A. 3, 257, 1841.

² *Dennstedt*, Entwicklung der organischen Elementaranalyse S. 48, 1899.

Der oben beschriebene Kalischmelzapparat eignet sich somit gut zur raschen Ausführung von Kalischmelzen stickstoffhaltiger organischer Substanzen und ermöglicht die Erzielung quantitativer Ergebnisse, sofern die Untersuchungssubstanz in der Kalischmelze ihren Stickstoff vollkommen abgibt.

Übrigens könnte die genannte Apparatur zur Konstitutionsermittlung unbekannter stickstoffhaltiger organischer Stoffe insofern herangezogen werden, als doch die in der Kalischmelze in Freiheit gesetzten flüchtigen Basen durch den kräftigen Luftstrom in die Vorlagen mit Säure getrieben, hier vollkommen absorbiert werden und eingengt als Salze der betreffenden Säure leicht identifiziert werden können.

Als solche würden sie einigermaßen Rückschlüsse auf die Natur des untersuchten Stoffes erlauben. Auch der Kalischmelzrückstand ist bei dieser Apparatur leicht zugänglich und kann ohne Schwierigkeiten quantitativ herausgelöst werden.

Methodisches.

Ausführung der Kalischmelze.

Vor Beginn der Bestimmung wird die Waschflasche *W* zwecks Reinigung der eintretenden Luft von Ammoniak mit verdünnter Schwefelsäure und die Röhren *U*₁ und *U*₂ mit Watte beschickt. Hierauf füllt man die Vorlagen *V*₁ und *V*₂ mit überschüssiger, genau eingestellter *n*/10 Säure unter Zusatz einiger Tropfen Methylrot als Indikator, und zwar soll *V*₁ zwei Drittel und *V*₂ ein Drittel der gesamten vorzulegenden *n*/10 Säure enthalten. In beiden Vorlagen wird die Säure mit destilliertem Wasser auf etwa 50 cm verdünnt. Die Vorlage *V*₃ spielt lediglich die Rolle einer Sicherheitsflasche und wird bloß mit destilliertem Wasser, welchem 1 bis 2 Tropfen Methylrot beigegeben werden, beschickt.

Die Vorlagen werden nun miteinander mittels dickwandiger Gummischläuche, welche jedesmal vor Beginn der Bestimmung mit etwas Glycerin befeuchtet werden, verbunden.

Sämtliche Schiffe der Vorlagen, der Waschflasche und der U-Röhren werden gleichmäßig mit Vaseline eingerieben.

Nun wird der Kalischmelzapparat beschickt. Die analysenreine, sorgfältig getrocknete Substanz wird eingewogen — die Einwage kann zwischen 20 und 100 mg schwanken — und auf eine im Apparat bereits befindliche Schicht des Ätzkali-Ätznatrongemisches gebracht. Für die Kalischmelze wird *Mercks* reinstes Ätzkali und reinstes Ätznatron, beide in Plätzchenform, verwendet, und zwar braucht man insgesamt je nach Größe 10 bis 20 Plätzchen Ätzkali (etwa 3,5 g) und 5 bis 8 Plätzchen Ätznatron (etwa 2 g).

Die Substanz wird mit dem übrigen Teil des Ätzkali-Ätznatrongemisches überdeckt, die Masse mit etwas destilliertem Wasser angefeuchtet und mit 1 bis 2 Tropfen Paraffin zwecks Verhütung des Schäumens versehen. Dann wird der Apparat nach sorgfältigem Bestreichen beider Gewinde mit Vaseline durch Aufschrauben des Deckels verschlossen und mit den beiden U-Röhren durch Schläuche verbunden. Schließlich wird das Thermometer

in die
geschlos
geschick

Ma
Brenner
schmelz
sein. U
es zeigt
Erhitze
eines D
peratur
konden
die Zers
produkt
durch c

Da
derselbe
peratur
bei mög

Na
der Lu
Maxima
lagen ü
ist eine
strom d
müssen

W
bindun
bindun
*V*₁ und
Vorlage
flüssig
Kohlen
schuß :

Be
meiste
20 bis
temper

Be
stimmt
Substa
Dumas
gepulv
wird d
versch
in den
gebrau
mittel
treffen

in die Hülse H gesteckt, die Vorlage V_3 an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen und ein ziemlich kräftiger Luftstrom durch die Apparatur geschickt.

Man beginnt hierauf mit dem Erhitzen, indem man einen regulierbaren Brenner mit einer kleinen, eben entleuchteten Flamme unter den Kalischmelzapparat setzt. Die Erhitzung muß unbedingt eine gleichmäßige sein. Ursprünglich wurde zu diesem Zwecke ein Paraffinbad verwendet, es zeigte sich aber bald, daß man das Bad vollkommen durch direktes Erhitzen mit einem Brenner ersetzen kann, sofern man durch Aufsetzen eines Daches auf den Brenner für eine konstante Flamme sorgt. Die Temperatur steigt langsam, wobei bei etwa 100° Wasserdampf entweicht, sich kondensiert und in der Kugel K ansammelt. Zwischen 180 und 220° beginnt die Zersetzung der Substanz, kenntlich daran, daß gasförmige Zersetzungsprodukte der letzteren, wie Wasserstoff oder Kohlenwasserstoffe, welche durch die Säure nicht absorbiert werden, entweichen.

Das Auftreten dieser Gasentwicklung gibt den Anfang, das Aufhören derselben das Ende der Zersetzung der Substanz an. Man kann die Temperatur bis 280° steigen lassen, jedoch nicht viel höher, weil die Kalischmelze bei möglichst tiefer Temperatur ausgeführt werden soll.

Nach Aufhören der Gasentwicklung wird der Brenner abgedreht, und der Luftstrom durch stärkstes Aufdrehen der Wasserstrahlpumpe auf das Maximale gesteigert, um sämtliche Reste der flüchtigen Basen in die Vorlagen überzutreiben. Die Absorption des Ammoniaks und der Alkylamine ist eine derartig heftige, daß man ganz unbesorgt einen sehr starken Luftstrom die Apparatur passieren lassen kann, ohne Verluste befürchten zu müssen.

Wenn das Thermometer T Zimmertemperatur anzeigt, wird die Verbindung zwischen U_2 und V_1 vorsichtig gelöst. Dann werden die Verbindungsstücke zwischen den einzelnen Vorlagen entfernt, der Inhalt von V_1 und V_2 in einen 300-cm-Erlenmeyerkolben hinübergespült und die Vorlagen solange mit destilliertem Wasser nachgewaschen, bis die Waschlöslichkeit nicht mehr kongosauer reagiert. Nun wird zur Vertreibung von Kohlensäure bis zum Kochen erhitzt und in der heißen Lösung der Überschuß an $n/10$ Säure mit genauer $n/10$ Lauge zurücktitriert.

Bezüglich der Dauer der Bestimmung ist hervorzuheben, daß bei den meisten Substanzen die Zersetzung durch die Kalischmelze innerhalb von 20 bis 30 Minuten beendet ist. Das Erkalten der Kalischmelze auf Zimmertemperatur nimmt weitere 10 Minuten in Anspruch.

Bei Substanzen, welche unter Zusatz von reduzierenden Stoffen bestimmt werden müssen, verfährt man folgendermaßen: Die eingewogene Substanz kommt zunächst in ein „Mischröhrchen“, wie es für die Mikro-Dumasbestimmung nach *Pregl*¹ verwendet wird und wird hier mit fein gepulvertem Kaliumsulfid oder Eisenpulver oder Zinkstaub bedeckt, dann wird das Röhrchen mit einem porenlosen, allseits genau schließenden Kork verschlossen und geschüttelt. Hierauf wird der Inhalt des Mischröhrchens in den Kalischmelzapparat auf eine Schicht des Ätzkali-Natrongemisches gebracht und das Röhrchen zwei- bis dreimal mit dem betreffenden Zusatzmittel ausgewaschen. Insgesamt braucht man etwa 1,5 g von dem betreffenden Reduktionsmittel. Auf die mit dem Zusatzmittel vermengte

¹ Quantitative organische Mikroanalyse, III. Aufl., 1930, S. 110.

Substanz kommt nun wieder eine Schicht des Schmelzgemisches. Im übrigen bleibt das Verfahren das gleiche wie es oben beschrieben wurde.

Die Waschflasche *W* wird von Zeit zu Zeit mit frischer Schwefelsäure beschickt; die Vorlagen V_1 bis V_3 sind jedesmal vor Beginn der Bestimmung mit Chromschwefelsäure zu waschen.

Analytische Belege.

I. Glykokoll, $C_2H_5O_2N$.

Mol.-Gew. = 75; N = 18,66%.

1. 114,292 mg Einwage; 15,05 ccm n/10 Säure wurden verbraucht. Kalischmelze ohne Reduktionsmittel ausgeführt.

$$N = 18,45\%$$

2. 83,090 mg Einwage; 10,90 ccm n/10 Säure. Kein Zusatzmittel.

$$N = 18,37\%$$

II. Alanin, $C_3H_7O_2N$.

Mol.-Gew. = 89; N = 15,73%.

1. 51,846 mg Substanz; 5,54 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.

$$N = 14,96\%$$

2. 38,424 mg Einwage; 3,68 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.

$$N = 13,41\%$$

3. 101,539 mg Substanz; 11,07 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.

$$N = 15,27\%$$

III. Amidovaleriansäure, $C_6H_{11}O_2N$.

Mol.-Gew. = 117; N = 11,97%.

- 35,521 mg Einwage; 2,91 ccm n/10 Säure. Zusatz von Kaliumsulfid.

$$N = 11,47\%$$

IV. Leucin, $C_6H_{13}O_2N$.

Mol.-Gew. = 131; N = 10,7%.

1. 123,857 mg Substanz; 2,52 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.

$$N = 2,85\%$$

d. s. 26,64% der theoretischen Stickstoffmenge.

2. 85,048 mg Einwage; 1,71 ccm n/10 Säure. Zusatz von Zinkstaub.

$$N = 2,82\%$$

3. 104,679 mg Einwage; 3,65 ccm n/10 Säure. Zusatz von Kaliumsulfid.

$$N = 4,88\%$$

d. s. 45,61% der theoretischen Stickstoffmenge.

1. 41,020

2. 97,678

1. 54,201

1. 102,11

2. 87,461

1. 78,591

2. 103,61

1. 73,361

2. 108,31

3. 54,741

V. *Arginincarbonat*, $(C_6H_{14}O_2N_4)_2H_2CO_3$.

Mol.-Gew. = 410; N = 27,32%.

1. 41,020 mg Einwage; 7,94 ccm n/10 Säure. Zusatz von Kaliumsulfid.
N = 27,08%.
2. 97,678 mg Substanz; 18,80 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 26,95%.

VI. *Lysindichlorhydrat*, $C_6H_{14}O_2N_2 \cdot 2 HCl$.

Mol.-Gew. = 219; N = 12,78%.

1. 54,201 mg Einwage; 3,8 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 9,81%,
d. s. 76,76% der theoretischen Stickstoffmenge.

VII. *Asparaginsäure*, $C_4H_7O_4N$.

Mol.-Gew. = 133; N = 10,52%.

1. 102,170 mg Substanz; 7,32 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 10,03%.
2. 87,463 mg Einwage; 6,56 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 10,50%.

VIII. *Taurin*, $C_2H_7O_3NS$.

Mol.-Gew. = 125; N = 11,20%.

1. 78,590 mg Substanz; 4,97 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 8,85%,
d. s. 79,02% der theoretischen Stickstoffmenge.
2. 103,630 mg Einwage; 6,49 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 8,77%.

IX. *Cystin*, $C_6H_{12}O_4N_2S_2$.

Mol.-Gew. = 240; N = 11,66%.

1. 73,361 mg Substanz; 6,04 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 11,52%.
2. 108,320 mg; 8,72 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 11,27%.
3. 54,749 mg Einwage; 4,46 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 11,41%.

X. Hippursäure, $C_9H_9O_3N$.

Mol.-Gew. = 179; N = 7,82%.

1. 124,377 mg Einwage; 6,44 ccm n/10 Säure. Kein Zusatzmittel.
N = 7,25%.
2. 114,166 mg Substanz; 5,88 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
N = 7,22%.

XI. Tyrosin, $C_9H_{11}O_3N$.

Mol.-Gew. = 181; N = 7,7%.

1. 51,717 mg Einwage; 2,80 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 7,58%.
2. 21,973 mg Einwage; 1,10 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 7,01%.

XII. Betainchlorhydrat, $C_5H_{11}O_2NHCl$.

Mol.-Gew. = 153,5; N = 9,12%.

1. 99,052 mg Einwage; 6,49 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 9,17%.
2. 78,319 mg Substanz; 5 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
N = 8,94%.

XIII. Cholinchloroplatinat, $(C_5H_{14}ONCl)_2PtCl_4$.

Mol.-Gew. = 616; N = 4,54%.

1. 111,506 mg Einwage; 3,30 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 4,14%.
2. 113,334 mg Einwage; 3,38 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 4,18%.

XIV. Neurinchloroplatinat, $(C_5H_{12}NCl)_2PtCl_4$.

Mol.-Gew. = 580; N = 4,82%.

1. 101,055 mg Einwage; 3,26 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 4,52%.
2. 88,237 mg Substanz; 2,94 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 4,66%.

XV. Harnstoff, CH_4ON_2 .

Mol.-Gew. = 60; N = 46,67%.

1. 39,056 mg Substanz; 6,98 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 25,02%.

Verhalten
2. 41,892
3. 18,811
Ätzna
4. 55,919
5. 70,787
6. 82,746
7. 47,027
Ätzna
1. 108,01
2. 128,72
3. 90,346
Ätzna
1. 82,971
2. 96,941

2. 41,892 mg Einwage; 8,58 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
 $N = 28,67\%$,
d. s. 61,43% der theoretischen Stickstoffmenge.
3. 18,811 mg Einwage; 3,50 ccm n/10 Säure. Natronkalk statt des Ätzkali-
Ätznatrongemisches. Kein Zusatz.
 $N = 26,05\%$.
4. 55,919 mg Substanz; 12,49 ccm n/10 Säure. Zusatz von Eisenpulver.
 $N = 31,28\%$.
5. 70,787 mg Einwage; 19,54 ccm n/10 Säure. Zusatz von Sulfit.
 $N = 38,64\%$.
6. 82,746 mg Einwage; 23,17 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
 $N = 39,21\%$,
d. s. 84,01% der theoretischen Stickstoffmenge.
7. 47,027 mg Einwage; 13,07 ccm n/10 Säure. Natronkalk statt des Ätzkali-
Ätznatrongemisches. Zusatz von Kaliumsulfid.
 $N = 38,90\%$.

XVI. Kreatin, $C_4H_9O_2N_3 + H_2O$.

Mol.-Gew. = 149; N = 28,19%.

1. 108,011 mg Substanz; 15,15 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
 $N = 19,64\%$,
d. s. 69,67% der theoretischen Stickstoffmenge.
2. 128,722 mg Einwage; 20,28 ccm n/10 Säure. Zusatz von Eisenpulver.
 $N = 22,06\%$,
d. s. 78,26% der theoretischen Stickstoffmenge.
3. 90,346 mg Einwage; 12,44 ccm n/10 Säure. Natronkalk statt des Ätzkali-
Ätznatrongemisches. Sulfitzusatz.
 $N = 19,28\%$.

XVII. Kreatinin, $C_4H_7ON_3$.

Mol.-Gew. = 113; N = 37,17%.

1. 82,971 mg Substanz; 15,05 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
 $N = 25,40\%$,
d. s. 68,34% der theoretischen Stickstoffmenge.
2. 96,945 mg Einwage; 18,11 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
 $N = 26,15\%$,
d. s. 70,35% der theoretischen Stickstoffmenge.

XVIII. Harnsäure, $C_5H_4O_3N_4$.

Mol.-Gew. = 168; N = 33,33%.

1. 26,841 mg Einwage; 3,32 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.

$$N = 17,32\%$$

1. 55,390

2. 26,043 mg Substanz; 3,69 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.

$$N = 19,84\%$$

2. 59,315

d. s. 59,53% der theoretischen Stickstoffmenge.

3. 91,141 mg Einwage; 11,36 ccm n/10 Säure. Natronkalk statt des Ätzkali-Ätznatrongemisches. Sulfitzusatz.

$$N = 17,45\%$$

d. s. 52,34% der theoretischen Stickstoffmenge.

1. 85,912

4. 77,438 mg Einwage; 13,05 ccm n/10 Säure Sulfitzusatz

$$N = 23,60\%$$

2. 52,958

*d. s. 70,81% der theoretischen Stickstoffmenge.*XIX. Guaninchlorhydrat, $C_5H_5ON_5HCl + H_2O$.

Mol.-Gew. = 205,5; N = 34,06%.

1. 57,428 mg Substanz; 7 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 17,07\%$$

3. 61,530

2. 60,290 mg Einwage; 7,81 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 18,13\%$$

d. s. 53,23% der theoretischen Stickstoffmenge.

1. 81,872

XX. Kaffein, $C_8H_{10}O_2N_4 + H_2O$

Mol.-Gew. = 212; N = 26,42%.

2. 77,420

1. 67,427 mg Substanz; 10,36 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 21,51\%$$

d. s. 81,42% der theoretischen Stickstoffmenge.

3. 56,720

2. 95,823 mg Einwage; 14,54 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 21,24\%$$

4. 81,382

XXI. Glucosaminchlorhydrat, $C_6H_{13}O_5NHCl$.

Mol.-Gew. = 215,5; N = 6,49%.

1. 84,028 mg Substanz; 3,59 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 5,98\%$$

1. 79,69

2. 85,662 mg Einwage; 3,91 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 6,39\%$$

XXII. Adrenalin, $C_9H_{13}O_3N$.

Mol.-Gew. = 183; N = 7,65%.

1. 55,390 mg Substanz; 2,91 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 7,35%.
2. 59,315 mg Einwage; 3,02 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 7,13%.

XXIII. Histamindichlorhydrat, $C_5H_9N_3 \cdot 2 HCl$.

Mol.-Gew. = 184; N = 22,82%.

1. 85,912 mg Einwage; 2,78 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 4,53%,
d. s. 19,85% der theoretischen Stickstoffmenge.
2. 52,958 mg Einwage; 4,44 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 11,74%.
3. 61,530 mg Einwage; 5,71 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 12,99%,
d. s. 56,92% der theoretischen Stickstoffmenge.

XXIV. Prolin, $C_5H_9O_2N$.

Mol.-Gew. = 115; N = 12,17%.

1. 81,872 mg Einwage; 3,03 ccm n/10 Säure. Kein Zusatz.
N = 5,18%.
2. 77,426 mg Substanz; 2,93 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
N = 5,29%,
d. s. 43,47% der theoretischen Stickstoffmenge.
3. 56,720 mg Substanz; 3,16 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 7,80%.
4. 81,382 mg Einwage; 4,66 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.
N = 8,02%,
d. s. 65,90% der theoretischen Stickstoffmenge.

XXV. Histidinmonochlorhydrat, $C_6H_9O_2N_3HCl + H_2O$.

Mol.-Gew. = 209,5; N = 20,05%.

1. 79,695 mg Substanz; 3,6 ccm n/10 Säure. Ohne Zusatz.
N = 6,33%,
d. s. 31,57% der theoretischen Stickstoffmenge.

2. 93,754 mg Einwage; 5,61 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 8,37\%$$

3. 85,625 mg Einwage; 5,39 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 8,81\%$$

d. s. 43,94% der theoretischen Stickstoffmenge.

XXVI. *Tryptophan*, $C_{11}H_{12}O_2N_2$.

$$\text{Mol.-Gew.} = 204; N = 13,72\%.$$

1. 21,882 mg Einwage; 1,12 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 7,16\%$$

d. s. 52,23% der theoretischen Stickstoffmenge.

XXVII. *Coniinbromhydrat*, $C_8H_{17}NHBr$.

$$\text{Mol.-Gew.} = 208; N = 6,73\%.$$

1. 74,519 mg Substanz; 3,36 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 6,31\%$$

2. 80,423 mg Einwage; 3,68 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 6,40\%$$

XXVIII. *Morphin*, $C_{17}H_{19}O_3N + H_2O$.

$$\text{Mol.-Gew.} = 303; N = 4,62\%.$$

1. 67,800 mg Einwage; 1,88 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 3,88\%$$

2. 59,734 mg Einwage; 1,79 ccm n/10 Säure. Sulfitzusatz.

$$N = 4,19\%$$

Zusammenfassung.

1. Es wird ein Apparat zur Ausführung *quantitativer Kalischmelzen* stickstoffhaltiger organischer Verbindungen angegeben, dessen Leistungsfähigkeit an Testsubstanzen erprobt und befriedigend gefunden.

2. Verschiedene physiologisch wichtige Substanzen wurden in diesem Apparat der Kalischmelze unterworfen und die Ergebnisse in bezug auf flüchtige Basen quantitativ verfolgt. Die Analysenergebnisse finden sich in einer Tabelle zusammengefaßt.

3. Nicht alle stickstoffhaltigen organischen Verbindungen geben in der Kalischmelze ihren gesamten Stickstoff ab. Es läßt sich vielmehr zeigen, daß Abkömmlinge von *stickstoffhaltigen Ringsystemen*, wie Histamin, Histidin, Prolin, Tryptophan, die Purine und Kreatinin durch die Kalischmelze nicht vollkommen aufgespalten werden. Auch manche Stoffe, wie *Harnstoff*, *Kreatin*, *Leucin* und *Lysin*, welche in

der Kalischmelze offenbar Ringbildung erleiden können, geben ihren Stickstoff nicht vollkommen ab. Dagegen konnte quantitative Stickstoffabspaltung in der Kalischmelze bei der Mehrzahl der *Aminosäuren*, der *Trimethylaminderivate*, beim *Glucosamin*, *Coniin* und *Morphin* beobachtet werden.

4. Der beschriebene Apparat kann weiter auch zur Untersuchung unbekannter stickstoffhaltiger organischer Substanzen mittels Kalischmelze herangezogen werden, da die durch die schmelzenden Alkalien in Freiheit gesetzten flüchtigen Basen durch den Luftstrom in die Vorlagen mit Säure getrieben, von dieser quantitativ absorbiert werden und nach dem Einengen leicht identifiziert werden können. Andererseits kann auch der Kalischmelzrückstand einer weiteren Untersuchung zugänglich gemacht werden.

5. Die Abspaltung flüchtiger Basen erfolgt durch die Kalischmelze *unvergleichlich schneller* als durch kochende Alkalien. Zur quantitativen Trennung und Bestimmung dieser in der Kalischmelze gebildeten Basen, welche als Salze isoliert werden können, kann die von uns schon früher¹ angegebene Methode verwendet werden.

¹ *Kapeller-Adler*, diese Zeitschr. **221**, 437, 1930.

Braunstein, A. E. und A. N. Parsehin. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. III. Mitteilung: Säurebasenhaushalt, vegetatives Nervensystem und die Oxydation und Paarung von Phenol	334
— — Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. IV. Mitteilung: Einfluß der Diurese auf das Schicksal von Phenol im Organismus	344
Täufel, K. und G. Gampferl. Über die Sterine der Gerste und ihrer Mälzungsprodukte	353
Hjorth-Hansen, Sverre. Zur Relation zwischen Bodenreaktion und chemischer Zusammensetzung des Hafers (<i>Avena sativa</i>). Orientierende Untersuchungen mit Goldregenhafer	359
Scharrer, K. und W. Schropp. Über die Wirkung der Saponine bei der Schweinemast	367
Kapeller-Adler, Regine. Über das Verhalten verschiedener organischer Stickstoffverbindungen in der Kalischmelze und über einen Apparat zur Bestimmung dabei auftretender flüchtiger Basen	375
Kapeller-Adler, Regine und E. Stern. Über die Fraktionierungsversuche von Basengemischen, insbesondere von Fleischextraktbasen mit Permutit	390
Kapeller-Adler, Regine und Julie Krael. Über das Schicksal der mit der Nahrung aufgenommenen Alkylamine und über deren angebliche Entmethylierung im Organismus sowie über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn	394
Schroeder, H. und F. Herrmann. Über die Kohlenhydrate und den Kohlenhydratstoffwechsel der Laubblätter. I. Mitteilung: Die Zunahme des Saccharosegehaltes beim Welken	407
Mutzenbecher, P. v. Untersuchung der bei Serumelektrodialyse auftretenden Eiweißfraktionen mit der Ultrazentrifuge	425
Kuroya, Masahiko. Bildung und Umwandlung von Methylglyoxal durch Fermente der Tuberkel- und der Timothee-bazillen	438
— Bildung von Methylglyoxal durch das wasserlösliche Ferment des Rattensarkoms	444
— Nachweis und quantitative Bestimmung der Lactose im Harn	447
Scheffer, Josef. Über die Verteilung des Cholesterins zwischen Blutkörperchen und Plasma unter dem Einfluß der Blutgase	451
Schiff, F. und G. Weiler. Fermente und Blutgruppen. I.	454
Sternberg, W. F. Über den Chlorgehalt des Blutes denervierter Gewebe	466
Cosack, Gert. Aktivierung und Stabilisierung von Pankreasdiastase durch Hämatin	469
Lutwak, C. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. X. Mitteilung: Über die Ammoniakbildung, welche den Zuckungen jodessigsäurevergifteter Muskel entspricht	485
Virtanen, Artturi I. Zur Spezifität der α -Glucosidasen. Bemerkung zu der Mitteilung von R. Weidenhagen	490
Autorenregister	492

Soeben erschien:

Nieren und ableitende Harnwege

Bearbeitet von

Prof. Dr. **F. Volhard**

Frankfurt a. M.

Prof. Dr. **F. Suter**

Basel

(„Handbuch der inneren Medizin“, zweite Auflage, herausgegeben von G. v. Bergmann, Berlin, und R. Staehelin, Basel, Band VI)

I. Teil. Mit 93 zum Teil farb. Abbildungen. XIII, 1023 Seiten. 1931
Gebunden RM 98.—

II. Teil. Mit 205 zum Teil farb. Abbildungen. III, 1113 Seiten. 1931
Gebunden RM 99.60

Beide Teile werden nur zusammen abgegeben

Inhaltsübersicht: Die **doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen**. Von Prof. Dr. F. Volhard, Frankfurt a. M. Physiologie der Nierenfunktion. Pathologische Physiologie der Nierenfunktion. Die Wassersucht. Die Veränderungen am Herzen und am Gefäßapparat. Die Urämie. Die Albuminurie. Geschichte und Einteilung der hämatogenen Nierenerkrankungen. Die Nephrosen, die primären Parenchym- und Mesenchymdegenerationen. Die diffuse Glomerulonephritis. Die infektiösen Herd-Nephritiden. Die Sklerosen. — Die **ein- und beidseitig auftretenden Nierenerkrankungen** (sogenannte chirurgische Nierenaffektionen). Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Allgemeiner Teil. Spezieller Teil. — **Erkrankungen der Blase, der Prostata, der Hoden und Nebenhoden, der Samenblasen. Funktionelle Sexualstörungen**. Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Erkrankungen der Harnblase. Erkrankungen der Prostata. Erkrankungen der Hoden, Nebenhoden, Samenblasen. Die funktionellen Störungen der männlichen Sexualorgane. — Literatur. — Namen- und Sachverzeichnis.

Vorlesungen über funktionelle Pathologie und Therapie der Nierenerkrankheiten.

Von Dr. Baron Alexander v. Korányi, o. ö. Professor, Direktor der III. Medizinischen Klinik der K. Ung. Pázmán Peter Universität der Wissenschaften in Budapest. Mit 37 Abbildungen. VIII, 330 Seiten. 1929.

RM 24.—; gebunden RM 26.80

Lehrbuch der Urologie und der chirurgischen Krankheiten der männlichen Geschlechts- organe.

Von Prof. Dr. Hans Wildbolz, Chirurgischer Chefarzt am Inselspital in Bern. (Aus: „Enzyklopädie der klinischen Medizin“, Spezieller Teil.) Mit 183 zum großen Teil farbigen Textabbildungen. VIII, 546 Seiten. 1924.

RM 36.—; gebunden RM 38.40

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Basel, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abu, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thoms-Leipzig, H. Thoms-Berlin, F. Verzar-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 243. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und F. Vering:

Über das Auftreten von methylierten Stickstoffverbindungen
im Seetang (II) und über einige an Kaltblütern ausgeführte
Fütterungsversuche mit Trimethylamin



Berlin

Verlag von Julius Springer

1931



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *ℳ* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derflingerstr. 19, zu richten.

Das Honorar beträgt *ℳ* 40.— für den 16seitigen Druckbogen. Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

243. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Henriques, O. M. Über die Zustandsformen des Kohlendioxyds im Blut	241
Fujita, Akiji und Shiro Kasahara. Zur jodometrischen und manometrischen Bestimmung des Stickstoffs mittels Hypobromit	256
Weiss, Gertrud. Untersuchungen über das Hefefett. I.	269
Fürth, Otto und Rudolf Scholl. Über das Auftreten von Phenolderivaten im Harne und deren quantitative Auswertung auf Grund der Millonschen Reaktion	274
Kapeller-Adler, Regine und F. Vering. Über das Auftreten von methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang (II) und über einige an Kaltblütern ausgeführte Fütterungsversuche mit Trimethylamin	292
Zirm, Konrad I. Zur gasometrischen Bestimmungsmethode der Aminogruppen nach D. D. van Slyke	310

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über das Auftreten
von methylierten Stickstoffverbindungen im Seetang (II) und
über einige an Kaltblütern ausgeführte Fütterungsversuche mit
Trimethylamin.

Von

Regine Kapeller-Adler und F. Vering.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1931.)

I.

In der ersten Mitteilung dieser Reihe¹ wurde über einen nicht unbeträchtlichen Gehalt der Seewasseralggen *Fucus vesiculosus* und *serratus* an vorgebildeten Aminen, wie Mono- und Trimethylamin zum ersten Male berichtet. Den Ausgangspunkt für diese Untersuchungen hatte die Tatsache des gehäuften Auftretens von Trimethylaminoxid, Trimethyl- und Monomethylamin bei Seefischen² gebildet. In diesem Zusammenhang war es nicht uninteressant erschienen, nachzuforschen, ob nicht etwa auch Seewasserpflanzen sich durch einen Gehalt an vorgebildeten methylierten Aminen auszeichnen.

Die zu diesem Zweck unternommene Untersuchung von *Fucus vesiculosus* und *serratus* führte zu der schon eingangs erwähnten Auf-
findung von Mono- und Trimethylamin in den genannten Seealgen.

Diese recht auffallenden Ergebnisse ließen ein eingehendes Studium dieses neuen Problems notwendig erscheinen. Es mußten vor allem auch andere als die oben zitierten Seewasseralggen einer genauen Untersuchung in bezug auf einen etwaigen Gehalt an Mono- und Trimethylamin unterworfen werden, wenn festgestellt werden sollte, daß dieser Gehalt an methylierten Aminen nicht nur eine Eigenart der *Fucus*arten

¹ Kapeller-Adler u. T. Csáto, diese Zeitschr. 224, 378, 1930.

² Suwa, Pflügers Arch. 128, 421, 1909; F. A. Hoppe-Seyler u. W. Schmidt, Zeitschr. f. Biol. 87, 1927; Sonderdruck a. d. Verhandl. d. phys.-med. Ges. Würzburg, neue Folge 53, H. 1; Grollmann, Journ. of biol. Chem. 81, 267, 1929; Kapeller-Adler u. Krael, diese Zeitschr. 224, 364, 1930.

R. Kapell
sei. In v
auch be
auch au
und See
Zur
von eini
pflanzen
Die
gefaßt.
Bez
behielten
Aus
und dar
wässerig
und Wa
und dies
nachfolg
aus den
in der F
nahme s
liegen.
alkoholi
hier unt
geschlos
Teil in
wurden
lusten n
Die
durch e
verdünnt
warfen
auf die
durch
genom
Trimeth
methyla
Üb
nachge
Da
als sole
Da
Tsalap
Methyl

1 1.
2 2
3 F
4 (

sei. In weiterer Folge waren die diesbezüglichen Verhältnisse unbedingt auch bei ähnlichen Süßwasserpflanzen zu überprüfen, konnten doch auch auf diesem Wege neue Vergleichspunkte zwischen der Süßwasser- und Seewasserflora gewonnen werden.

Zur Erledigung dieses Fragenkomplexes wurde die Untersuchung von einigen Vertretern verschiedener Klassen von See- und Süßwasserpflanzen in Angriff genommen.

Die Ergebnisse finden sich in der nachfolgenden Tabelle zusammen gefaßt.

Bezüglich der Arbeitsmethodik sei erwähnt, daß wir die gleiche beibehielten, wie sie in der vorhergehenden Mitteilung¹ geschildert worden war.

Aus den Pflanzen wurde durch zweimaliges Auskochen mit Alkohol und darauffolgendes einmaliges Ausziehen mit Wasser ein alkoholisch-wässriger Auszug angefertigt, welcher daraufhin im Vakuum von Alkohol und Wasser befreit wurde. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, und dieser wässrige Extrakt bildete jeweils das Ausgangsmaterial für die nachfolgenden Untersuchungen. Vorwegnehmend sei hervorgehoben, daß aus den Extrakten sämtlicher untersuchter Pflanzen durch Alkali schon in der Kälte gasförmige Basen in Freiheit gesetzt werden, was für die Annahme spricht, daß diese Basen in den Pflanzen in gebundener Form vorliegen. Es soll aber an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß die alkoholischen Auszüge einiger Seewasserpflanzen, und zwar sämtlicher hier untersuchter Rotalgen, alkalische Reaktion aufwiesen, so daß daraus geschlossen werden muß, daß in diesen Pflanzen die Basen wenigstens zum Teil in freier Form vorgebildet auftreten. Zur weiteren Verarbeitung wurden die alkalisch reagierenden Extrakte zwecks Vermeidung von Verlusten mit verdünnter Salzsäure neutralisiert.

Die flüchtigen Basen wurden jeweils aus den Auszügen nach *Folin*² durch einen Luftstrom bei gewöhnlicher Temperatur ausgetrieben und in verdünnter Salzsäure aufgefangen. Die erhaltenen Chlorhydrate unterwarfen wir zunächst einer qualitativen Prüfung. Da das Hauptaugenmerk auf die methylierten Amine gerichtet war, wurde zunächst eine Trennung durch Ausziehen der Basenchlorhydrate mit heißem Chloroform vorgenommen. Der chloroformlösliche Anteil mußte die *Dimethylamin-Trimethylaminfraktion* enthalten, ungelöst blieben *Salmiak* und *Monomethylaminchlorhydrat*.

Übrigens konnte Dimethylamin in keiner untersuchten Pflanze nachgewiesen werden.

Das Trimethylamin wurde in das Chloroaurat umgewandelt und als solches mittels Schmelzpunktes und Methylimidanalysen identifiziert.

Das Monomethylamin wiesen wir mittels der Reaktion von *Tsalapatani*³ nach und den Gehalt bestimmten wir indirekt mittels Methylimidanalyse nach *Pregl*⁴.

¹ l. c.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 161, 1902/03.

³ Bull. de la Soc. de steinte din Bucuresci **16**, 67, 1907.

⁴ Quantitative organische Mikroanalyse, 3. Aufl., 1930, S. 215.

Zur Untersuchung gelangten *Süßwasserpflanzen* und *Süßwasserplankton* aus dem Lunzer See, welches Material wir dem Entgegenkommen der Leitung der biologischen Station in Lunz (Nieder-Österreich) verdanken und *Seealgen* aus der Nordsee, welche uns die Preußische Biologische Anstalt Helgoland in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hat. Die Pflanzen aus dem Lunzer See konnten wir in lebensfrischem Zustand untersuchen, die Seealgen wurden aus Helgoland in mit 96%igem Alkohol beschickten Gefäßen hierher gesandt, so daß auch hier frisches, anscheinend unzersetzt Material vorlag.

Bei der Durchsicht des Zahlenmaterials ergibt sich vor allem ein *grundlegender Unterschied* zwischen den *Süß- und Seewasserpflanzen*. Während in den letzteren durchwegs Trimethylamin in größerer oder geringerer Menge aufgefunden werden konnte, enthalten *weder Süßwasserpflanzen* noch *Süßwasserplankton* auch nur die geringste Spur von *Trimethylamin*.

Es liegen also hier ähnliche Verhältnisse wie bei den Seetieren vor, welche sich durch ihren Reichtum an Trimethylamin und Trimethylaminoxyd vor den Süßwassertieren auszeichnen.

Übrigens konnte Trimethylaminoxyd in den Seealgen nicht nachgewiesen werden.

Der Monomethylamingehalt ist bei den Seewasserpflanzen größtenteils höher als bei den Süßwasserpflanzen. Mit Ausnahme der Elodea, welche über ziemlich viel Monomethylamin verfügt, ist der Methylaminwert bei den untersuchten Süßwasserpflanzen relativ niedrig (1,5 bis 4 mg für 100 g Trockensubstanz).

Der Ammoniakwert ist allenthalben unspezifisch, weil er bei allen untersuchten Pflanzen innerhalb weitester Grenzen differiert.

Das Plankton aus dem Lunzer See enthielt nur Spuren Ammoniak und Monomethylamin, jedoch kein Trimethylamin.

Was nun die Seealgen anlangt, so haben wir einzelne Vertreter dreier Gruppen dieser Pflanzen in den Kreis unserer Untersuchungen einbezogen, und zwar *Grün-, Braun- und Rotalgen*.

Bei den untersuchten *Grünalgen* liegt der Trimethylaminwert mit Ausnahme der *Enteromorpha Linza* bei etwa 10 mg pro 100 g Trockensubstanz. Die *Enteromorpha Linza* enthält etwa das vierfache an Trimethylamin. Der Monomethylaminwert bewegt sich bei den Grünalgen zwischen 4 und 38 mg für 100 g Trockensubstanz. Die Schwankungen des Ammoniakgehalts sind hier noch viel beträchtlicher.

Der Trimethylamingehalt der *Braunalgen* ist hingegen weit konstanter. Bezüglich des in der früheren Arbeit¹ erhaltenen höheren Trimethylaminwertes ist hervorzuheben, daß uns seinerzeit kein ein-

¹ l. c.

Tabelle I.

Name der Pflanze	100 g Trockensubstanz enthalten:					
	Ammoniak	Methylamin	Trimethylamin	Ammoniak N	Methylamin N	Trimethylamin N
A. Süßwasserpflanzen.						
<i>Cladophora</i> sp.	0,0148	0,0015	θ	0,0122	0,0007	θ
<i>Lemna minor</i>	0,0081	0,0019	θ	0,0069	0,0008	θ
<i>Elodea canadensis</i>	0,4249	0,0300	θ	0,3497	0,0132	θ
<i>Ceratophyllum submersum</i>	0,0492	0,0040	θ	0,0406	0,0017	θ
Süßwasser-Plankton	Spuren	Spuren	θ	Spuren	Spuren	θ
B. Seewasserpflanzen.						
<i>Cladophora rupestris</i>	0,1148	0,0040	0,0108	0,0945	0,0018	0,0025
<i>Enteromorpha compressa</i>	0,0675	0,0131	0,0102	0,0556	0,0059	0,0024
<i>Enteromorpha Linza</i>	0,2047	0,0109	0,0438	0,1686	0,0049	0,0104
<i>Ulva curvata</i>	0,0292	0,0379	0,0126	0,0240	0,0171	0,0030
<i>Fucus vesiculosus</i>	0,0313	0,0110	0,0537	0,0257	0,0050	0,0127
<i>Fucus serratus</i>	0,0333	0,0074	0,0471	0,0315	0,0034	0,0112
<i>Fucus</i> * <i>vesiculosus</i> und <i>serratus</i>	0,1142	0,0159	0,0851	0,0940	0,0072	0,0202
<i>Ceramium rubrum</i>	0,2423	0,0333	0,5030	0,1995	0,0150	0,1194
<i>Rhodomela subfusca</i>	0,5256	0,0793	0,4942	0,4328	0,0358	0,1173
<i>Chondrus crispus</i>	0,2135 0,2203 0,2272	0,0124 0,0138 0,0153	0,0200 0,0174 0,0148	0,1758 0,1814 0,1871	0,0056 0,0062 0,0069	0,0048 0,0041 0,0035

* Vgl. *Kapeller-Adler* und *Csiko*, diese Zeitschr. 234, 379, 1930.

Grünalgen

Braunalgen

Rotalgen

wandfrei reines und frisches Material zur Verfügung stand, vielmehr konnte damals lediglich ein Gemenge von *Fucus vesiculosus* und *serratus*, wie es in den Fangnetzen der Fischer hängen geblieben war, untersucht werden. Die in der vorliegenden Arbeit angeführten Resultate sind an einem einwandfreien, frischen Material gewonnen worden.

Der Monomethylamingehalt und auffallenderweise auch der Ammoniakgehalt der beiden *Fucaceen* zeigen unerhebliche Schwankungen.

Etwas anderes ist der Sachverhalt bei den *Rotalgen*. Während die beiden ersten in der Tabelle angeführten Rotalgen eine geradezu ideale Übereinstimmung bezüglich dieses Trimethylamingehalts aufweisen, ist der Trimethylaminwert von *Chondrus crispus* um etwa das 25fache niedriger. Dieses so auffallende Ergebnis hatte zur Folge, daß ein weiteres Material von *Chondrus crispus* zur Untersuchung gebracht wurde, damit jeglicher Analysenfehler ausgeschlossen werden könne. Bei der zweiten Aufarbeitung erhielten wir ähnliche Resultate wie bei der vorhergehenden.

Was den Methylamingehalt der Rotalgen betrifft, so ist er am höchsten bei *Rhodomela subfusca*, um etwa die Hälfte geringer bei *Ceramium rubrum* und am niedrigsten (etwa ein Fünftel vom Methylaminwert von *Rhodomela*) bei *Chondrus crispus*.

Während die Ammoniakwerte bei *Ceramium rubrum* und *Chondrus crispus* fast gleich groß sind, ist der Ammoniakgehalt von *Rhodomela* beinahe auf das Doppelte erhöht.

Zusammenfassend läßt sich folgendes aussagen: Die *Seewasserpflanzen* unterscheiden sich von den *Süßwasserpflanzen* durch einen Gehalt an *Trimethylamin*, welches letzteres bei den Süßwasserpflanzen vollkommen fehlt und weiter meist durch einen *Mehrgehalt* an *Monomethylamin*. Darin zeigt sich eine weitgehende Parallelität der Seewasserpflanzen mit den Seetieren gegenüber den Süßwasserorganismen. Es läßt sich weiter feststellen, daß innerhalb systematischer Gruppen im großen und ganzen der Gehalt an methylierten Aminen derselben Größenordnung angehört.

Eine auffallende Ausnahme hiervon stellt *Chondrus crispus* dar, welche Seealge, trotzdem sie auch den Florideen angehört, mit den beiden anderen hier untersuchten Rotalgen sowohl bezüglich des Trimethylamin- als auch betreffs des Monomethylamingehalts bedeutende Abweichungen aufweist.

Eine ähnliche Feststellung konnten *Klein* und *Steiner*¹ gelegentlich ihrer Untersuchungen der Stickstoffbasen im Eiweißabbau *höherer*

¹ Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. 68, 602, 1928.

Auftrete

Pflanzen
sächlich
angetro
Amine
meisten
Gruppe

Über ein

Für
Trimeth
könnte
Von au
Lebens
sich, da
festgest
und Tr

Es
Lebensl
die erv
aufgenc
ob unt
wechsel
Endpro
werden

So
verbind
müssen
amin o
die kle
Seefisch

In
forsche
sich ja
verhalt

Zu
denen
Fütter

Di
auch in

Pflanzen machen. Die Autoren haben verschiedene Amine, hauptsächlich aliphatischer Natur, in den mannigfaltigsten Blütenpflanzen angetroffen und heben hervor, daß bezüglich des Auftretens dieser Amine *Verwandtschaftsbeziehungen nirgends den Ausschlag geben*. Die meisten dieser Amine kommen vielmehr unregelmäßig in den einzelnen Gruppen und Klassen ohne jeden Zusammenhang mit dem System vor.

II.

Über einige an Kaltblütern durchgeführte Fütterungsversuche mit Trimethylamin.

Für das bekannte Auftreten der methylierten Amine und des Trimethylaminoxids in der Muskulatur und im Harn der Seetiere könnten verschiedene Faktoren verantwortlich gemacht werden. Von ausschlaggebender Bedeutung scheint hierbei jedenfalls das äußere Lebensmilieu dieser Seeorganismen zu sein, denn nur so erklärt es sich, daß, wie im Würzburger Physiologisch-Chemischen Laboratorium festgestellt worden ist, der Seeaal beispielsweise Trimethylaminoxid und Trimethylamin enthält¹, der Flußaal dagegen nicht.

Es bleibt nun die Frage offen, ob die Auswirkungen der äußeren Lebensbedingungen exogener oder endogener Natur sind, ob also die erwähnten methylierten Stickstoffkomplexe mit der Nahrung aufgenommen und im Organismus gespeichert werden, oder aber, ob unter dem Einfluß des Lebensmilieus der Chemismus des Stoffwechsels dieser Tiere vollkommen verändert wird, wobei eigenartige Endprodukte wie Trimethylaminoxid und methylierte Amine gebildet werden.

Sollte die Ursache für das Auftreten der methylierten Stickstoffverbindungen in der Beschaffenheit der Nahrung zu suchen sein, so müssen die als Nahrung dienenden Stoffe naturgemäß selbst Trimethylamin oder verwandte Komplexe enthalten. Es ist nun bekannt, daß die kleineren Seefische und Crustaceen, von denen sich die größeren Seefische nähren, Trimethylaminoxid und Trimethylamin enthalten².

In diesem Zusammenhang erschien es von Bedeutung, nachzuforschen, wie sich der Organismus der Kaltblüter — hier handelt es sich ja hauptsächlich um solche — zur Darreichung von Trimethylamin verhalte.

Zu diesem Zweck sollten in Süßwässern lebende Kaltblüter, von denen es feststand, daß sie kein Trimethylamin enthalten, einer Fütterung mit Trimethylaminchlorhydrat unterzogen werden.

Die zu erwartenden Ergebnisse dieser Untersuchungen waren auch in einem anderen Zusammenhang für uns von Interesse, da wir

¹ Hoppe-Seyler u. Schmidt, l. c.

² Grollmann, l. c.

doch in einer der früheren Arbeiten¹ Erfahrungen über das Schicksal des verfütterten Trimethylamins im Organismus von Hunden — also von Warmblütern — gesammelt hatten.

Als Versuchstiere benutzten wir zunächst *Goldfische*, in weiterer Folge *große ungarische Wasserfrösche*.

Die Versuche an den Goldfischen gestalteten sich folgendermaßen: zwölf Goldfische von etwa 6 bis 12 cm Länge wurden in drei mit grünen Pflanzen und Sand beschickte Aquarien gebracht. Das Futter bildeten Ameiseneier, welche mit einer etwa 30%igen Trimethylaminchlorhydratlösung getränkt worden waren. Die Fütterungsvorrichtung bestand im wesentlichen aus einem größeren, mit zahlreichen kleinen Löchern versehenen Korkstopfen, in welche 15 bis 20 Holzstäbchen hineingesteckt wurden. Dieser die Holzstäbchen tragende Korkstopfen wurde derart befestigt, daß er sowohl in horizontaler als in vertikaler Richtung verschoben werden konnte. An den Holzstäbchen wurden die getränkten Ameiseneier knapp über der Wasseroberfläche fixiert. Mit der Zeit gewöhnten sich die Goldfische an diese Art der Nahrungsdarreichung und holten sich die Ameiseneier von den Stäbchen herunter. Diese wurden drei- bis viermal am Tage frisch mit Ameiseneiern beschickt.

Die Fütterung dauerte vom Dezember 1930 bis zum März 1931. Während dieser Zeit zeigten sich an den Fischen einzelne Veränderungen. Am auffallendsten erschien es, daß fast alle stark hervorstehende Augen bekamen, bei manchen zeigte sich außerdem auf den Augen ein schimmelartiger Belag, der nach den Bewegungen der Tiere zu schließen, offenbar mit einer Sehstörung verbunden war. Diese Erscheinung bildete sich nach wenigen Tagen zurück, um dann nach einiger Zeit wieder aufzutreten. Andere Goldfische waren im ganzen von einem weißlichen, schimmelartigen Schleier überzogen, wobei die Flossen wie angenagt zu zerfallen begannen.

Es muß hier hervorgehoben werden, daß von einer quantitativen Auswertung dieser Fütterungsversuche nicht die Rede sein konnte, weil manche Ameiseneier von den Goldfischen nach kürzerer oder längerer Zeit ausgespuckt wurden, andere Ameiseneier wieder ins Wasser fielen und hier ausgelaugt wurden. Es war uns ja hauptsächlich darum zu tun, qualitativ feststellen zu können, wie sich diese Fütterung mit Trimethylamin auf den Organismus der Goldfische auswirke.

Zur chemischen Aufarbeitung wurden die Fische mit Äther narkotisiert, die Köpfe mit einem raschen Schnitt abgetrennt, die Körperhöhle eröffnet, Schwanz und Eingeweide vom Skelett entfernt, die Muskeln kräftig mit Wasser abgespült und so der Untersuchung zugeführt. Der schwach alkalisch reagierende Muskel wurde einer Wasserdampfdestillation unterworfen und das Destillat in doppeltnormaler Salzsäure aufgefangen. Die Salzsäurelösung wurde zur Trockne gebracht und der Rückstand mit heißem *Chloroform* extrahiert. In den Chloroformauszug mußte das gesamte Trimethylaminchlorhydrat hineingehen. Weiter mußte auf ein eventuell gebildetes Trimethylaminoxyd geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde zunächst der Muskel mit starker Lauge solange erhitzt, bis das Destillat

¹ Kapeller-Adler u. Krael, diese Zeitschr. 235, 394, 1931.

Auftrete

nicht m
destillat
Trimeth
und kon

Auf

Goldfisc
aminchl
mittels
oxyd li

Die

die in
uns, u
zusetz
Wasser

Zw

mit Ar
chlorhy
waren
wurde.

Die

Ameise
Glasstä
person
öffnet v
Die Fü
blieb fü
Bei dies
vor, da
ausgesp

W

so wur
loren n
gelähm
treibun
diese F
verarbe
zualte

Zu

von de
zerstört
ohne di
und die
wurder
Versuch
lowski¹
Boraxl

1

nicht mehr alkalisch reagierte; hierauf wurde der Muskel einer Zinkstaubdestillation in alkalischer Lösung unterworfen. Extra vorhandenes Trimethylaminoxid wurde bei dieser Prozedur zu Trimethylamin reduziert, und konnte als solches identifiziert werden.

Auf diesem Wege gelang es uns, aus den Muskeln der vorbehandelten Goldfische (15,7 g feuchter Muskulatur) wenige Milligramme Trimethylaminchlorhydrat, welches wir in das *Goldsalz* überführten und als solches mittels Schmelzpunktes identifizierten, zu gewinnen. Trimethylaminoxid ließ sich nicht nachweisen.

Dieses aber nur unscheinbare Resultat, offenbar bedingt durch die in zu geringer Menge vorhandene Ausgangssubstanz, veranlaßte uns, unsere Fütterungsversuche mit größerem Muskelmaterial fortzusetzen. Wir zogen nun für unsere Fütterungsversuche große ungarische Wasserfrösche heran.

Zwölf Wasserfrösche wurden 2 Monate hindurch (Mai bis Juli 1931) mit Ameiseneiern, welche mit einer etwa 30%igen Trimethylaminchlorhydratlösung getränkt worden waren, gefüttert. Die Aquarien waren mit Wasser gefüllt, welches etwa einmal täglich gewechselt wurde.

Die Fütterung wurde nun so vorgenommen, daß einige getränkte Ameiseneier (etwa sechs auf einmal) mit dem Ende eines abgeschmolzenen Glasstabes aufgenommen wurden und diese, nachdem durch eine Hilfsperson der Rachen des Frosches mittels eines stumpfen Holzspatels geöffnet worden war, möglichst in den Ösophaguseingang eingebracht wurden. Die Fütterung wurde im allgemeinen einmal täglich vorgenommen. Sie blieb für einige Tage aus, wenn die Tiere ein abnormes Verhalten zeigten. Bei diesen Versuchen kam es manchmal, ebenso wie bei der Fischfütterung vor, daß die getränkten Ameiseneier von den Fröschen teilweise wieder ausgespuckt wurden.

Was das Verhalten der Tiere während der Fütterungszeit betrifft, so wurden folgende Störungen beobachtet: Manche Versuchstiere verloren nach einiger Zeit die normale Beweglichkeit im Raum, wurden partiell gelähmt und fingen an, sich im Kreise zu drehen. Andere wiesen eine Auftreibung des Leibes und Müdigkeit auf. Bei vielen Fröschen verliefen diese Erscheinungen letal. In solchen Fällen wurden die Frösche sofort verarbeitet, um postmortale Veränderungen des Muskels möglichst hintanzuhalten.

Zur Untersuchung wurde durch einen Schnitt der dorsale Kopfteil von der Wirbelsäule abgetrennt und das Rückenmark durch Einstechen zerstört. Hierauf wurde die Haut nach einigen flachen Scherenschnitten, ohne die Bauchhöhle zu eröffnen, abgelöst und die Muskeln der Extremitäten und diejenigen der Brust- und Bauchregion herauspräpariert. Die Frösche wurden in vier Serien analog wie bei den Goldfischen aufgearbeitet. Ein Versuch wurde so unternommen, daß der Muskel nach *Parnas* und *Mozolowski*¹ aufgearbeitet wurde, indem der Muskel mit einer bei 12^o gesättigten Boraxlösung verrieben wurde.

¹ Diese Zeitschr. 184, 405, 1927.

In der nachfolgenden Tabelle finden sich die Ergebnisse sämtlicher Fütterungsversuche zusammengefaßt.

Tabelle II.

	Gewicht des feuchten Muskels g	Im Muskel gespeichertes Trimethylamin mg	Trimethylamin- oxyd
Goldfische	15,71	Spuren	θ
Ungarische	40,00	7,7	θ
Wasserfrösche	77,00	2,1	θ
	67,00	12,4	θ
	39,00	4 1	θ

Die in dieser Tabelle angeführten Zahlen können, wie schon oben erwähnt, keineswegs als Ergebnisse quantitativ durchgeführter Versuche gewertet werden. Aus den obengenannten Versuchen können wir jedoch die Schlußfolgerung ziehen, daß der *Organismus* der *Kaltblüter* imstande ist, *verfüttertes Trimethylamin im Muskel zu speichern*. Bei Warmblütern ist von einer derartigen Speicherung bisher nichts bekannt. Ob bei Kaltblütern auch Trimethylaminoxyd gebildet wird, konnten wir nicht feststellen.

Diese Speicherung des Trimethylamins im Muskel der Goldfische und Frösche läßt sich wohl durch den allen Kaltblütern eigenen, sehr trägen Stoffwechsel erklären. Dieser verursacht eine Retention verschiedener harnfähiger Substanzen. So ist es bekannt, daß die Selachier in ihren Geweben große Mengen von Harnstoff anhäufen.

Durch die oben geschilderten Fütterungsversuche gewinnt die Hypothese, daß die Seefische den Trimethylamingehalt ihrer Muskeln wenigstens zum Teil der von ihnen aufgenommenen Nahrung verdanken, vielleicht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, trotzdem die vollkommene Analogie zu den Seefischen insofern ja nicht besteht, als doch die letzteren im frischen Zustand Trimethylaminoxyd und nur wenig Trimethylamin enthalten. In diesem Zusammenhang sei noch einmal auf den in dem ersten Teil dieser Arbeit erhobenen Befund, daß Seewasserpflanzen im Gegensatz zu Süßwasserpflanzen Trimethylamin enthalten, kurz hingewiesen. Diese Tatsache drängt unwillkürlich den Gedanken an eine Beziehung zwischen dem Trimethylamingehalt der Seewasserpflanzen und demjenigen der Seetiere auf.

Wir möchten jedoch dieser Annahme nur mit äußerster Zurückhaltung Ausdruck geben, da wir uns dessen voll bewußt sind, daß auch andere Auslegungen sehr wohl möglich sind.

Ein
schrankDie
Alkohol
alkoholis
Rücksta
materialDie
96%iger
intensiv
Flüssigk
Reaktion
den Seef
mit Wa
dann ira)]
Tropfen
zweites
gestülpt
Lackmub))
eines sta
normale
durch r
Chlorof
Extrakt
weiße N
chlorwa
punktbe
fiziert v

1.

2.

Im
neben
stimme
die Bes

Versuchsteil und analytische Belege.

Trockengewichtsbestimmung.

Ein Teil der lufttrockenen Pflanzen wurde gewogen und im Brutschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Darstellung des Extraktes.

Die zu untersuchende Pflanze wurde zweimal je 3 Stunden mit 96%igem Alkohol und hierauf einmal 3 Stunden mit Wasser extrahiert. Die vereinigten alkoholisch wässrigen Extrakte wurden im Vakuum eingengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Diese Lösung bildete das Ausgangsmaterial für sämtliche Untersuchungen.

Die aus Helgoland stammenden Seepflanzen befanden sich in mit 96%igem Alkohol versehenen Gefäßen. Der Alkohol wies durchwegs eine intensive Färbung auf. Zunächst wurde die Reaktion dieser alkoholischen Flüssigkeit auf feuchtes Lackmuspapier geprüft und, sobald alkalische Reaktion festzustellen war, mit verdünnter Salzsäure neutralisiert. Bei den Seepflanzen wurde dann nur noch einmal mit heißem Alkohol und einmal mit Wasser in der Hitze extrahiert. Die extrahierten Pflanzen wurden dann im Brutschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Qualitative und quantitative Untersuchung des Extraktes.

a) Einige Tropfen des Auszuges wurden auf einem Uhrglas mit einigen Tropfen Natronlauge versetzt, und über dieses Uhrglas wurde rasch ein zweites mit einem feuchten roten Lackmuspapier versehenes darübergestülpt. Nach wenigen Minuten tritt intensive Blaufärbung des roten Lackmuspapiers auf.

b) Aus einem aliquoten Teil des Extraktes wurden nach *Folin* mittels eines starken Luftstromes die flüchtigen Basen ausgetrieben und in doppelt normaler Salzsäure aufgefangen. Nach dem Einengen wurde der Rückstand durch neuerliche Destillation gereinigt und einer Extraktion mit heißem Chloroform unterworfen. Der Chloroformauszug wurde eingengt. Aus Extrakten der Seepflanzen konnten in der Chloroformfraktion schöne weiße Nadeln vom Schmelzpunkt 271° isoliert werden, welche mit Goldchlorwasserstoffsäure ein Goldsalz lieferten. Dieses konnte mittels Schmelzpunktbestimmung und Methylimidanalyse als $(\text{CH}_3)_3\text{NHCl}$, AuCl_3 identifiziert werden. Im folgenden ein Auszug aus dem Analysenprotokoll:

1. 2,904 mg Substanz lieferten 5,191 mg AgJ,

ber.: $3 \text{CH}_3 = 11,28\%$,

gef.: $3 \text{CH}_3 = 11,44\%$.

2. 3,541 mg Substanz lieferten 6,072 mg AgJ,

ber.: $3 \text{CH}_3 = 11,28\%$,

gef.: $3 \text{CH}_3 = 10,97\%$.

Im chloroformunlöslichen Rückstand ließ sich bei allen Extrakten neben Salmiak Methylaminchlorhydrat nachweisen und quantitativ bestimmen. Der Nachweis erfolgte mittels der Reaktion von *Tsalapatani*, die Bestimmung führten wir mittels Methylimidanalyse nach *Pregl* durch.

A. Untersuchung von Süßwasserpflanzen (Lunzer-See).

I. Cladophora sp.

179 g Trockensubstanz wurden verarbeitet. Es wurden erhalten
 0,0894 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$

Methylimidanalysen. 1. 19,103 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 179 g Trockensubstanz lieferten 4,526 mg AgJ. Daraus folgen 0,0061 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 179 g Trockensubstanz.

2. 19,374 mg desselben Gemenges ergaben 4,342 mg AgJ. Dies entspricht 0,058 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 179 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 179 g Trockensubstanz enthalten 0,0059 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$. Daraus errechnen sich 0,0015 g CH_3NH_2 und 0,0007 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ für 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,0894 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 179 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0059 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,, } 179 \text{ g} \quad \text{,,} \\ \hline 0,0835 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 179 \text{ g Trockensubstanz} \end{array}$$

Dies entspricht 0,0148 g NH_3 und 0,0122 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

II. Lemna minor.

161,5 g Trockensubstanz lieferten 0,0480 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$

Methylimidanalysen. 1. 13,008 g obigen Gemenges lieferten 6,300 mg AgJ. Daraus folgen 0,0067 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 161,5 g Trockensubstanz.

2. 14,111 mg desselben Gemenges ergaben 5,623 mg AgJ. Daraus folgen 0,0055 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 161,5 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 161,5 g Trockensubstanz enthalten 0,0061 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$. Daraus errechnen sich 0,0019 g CH_3NH_2 und 0,0008 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ für 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,0480 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 161,5 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0061 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,, } 161,5 \text{ g} \quad \text{,,} \\ \hline 0,0419 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 161,5 \text{ g Trockensubstanz} \end{array}$$

Daraus errechnen sich 0,0081 g NH_3 und 0,0069 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

III. Ceratophyllum submersum.

131,7 g Trockensubstanz lieferten 0,2157 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$

Methylimidanalysen. 1. 18,717 mg obigen Gemenges ergaben 3,301 mg AgJ. Daraus folgen 0,0110 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 131,7 g Trockensubstanz.

2. 20,614 mg desselben Gemenges lieferten 3,765 mg AgJ. Daraus berechnen sich 0,0113 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 131,7 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 131,7 g Trockensubstanz enthalten 0,0112 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$. Daraus ergeben sich 0,0040 g CH_3NH_2 und 0,0017 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,2157 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 131,7 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0112 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,, } 131,7 \text{ g} \quad \text{,,} \\ \hline 0,2045 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 131,7 \text{ g Trockensubstanz} \end{array}$$

Das sind 0,0492 g NH₃ und 0,0406 g NH₃-N in 100 g Trockensubstanz.

IV. *Elodea canadensis.*

$$28,72 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,4025 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$$

Methylimidanalysen. 1. 25,421 mg dieses Gemenges lieferten 3,789 mg AgJ. Daraus folgen 0,0173 g CH₃NH₂HCl in 28,72 g Trockensubstanz.

2. 21,326 mg desselben Gemenges lieferten 3,626 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0197 g CH₃NH₂HCl in 28,72 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 28,72 g Trockensubstanz enthalten 0,0185 g CH₃NH₂HCl. Daraus errechnen sich 0,0300 g CH₃NH₂ und 0,0132 g CH₃NH₂-N für 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,4025 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 28,72 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0185 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,, } 28,72 \text{ g} \quad \text{,,} \\ \hline 0,3840 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 28,72 \text{ g Trockensubstanz} \end{array}$$

Daraus ergeben sich 0,4249 g NH₃ und 0,3497 g NH₃-N in 100 g Trockensubstanz.

Untersuchung von Süßwasserplankton (Lunzer-See). 50 g Plankton (feucht) wurden verarbeitet und lieferten 0,0068 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ und kein Trimethylaminchlorhydrat. Infolge Mangels an Material mußte auf eine weitere Aufarbeitung verzichtet werden.

B. *Untersuchung von Seewasserpflanzen.*

I. Braunalgen.

1. *Fucus serratus.*

$$45 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,0959 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl} \end{array} \right.$$

45 g Trockensubstanz lieferten 0,0343 g (CH₃)₃NHCl, das sind 0,0471 g (CH₃)₃N und 0,0112 g (CH₃)₃N-N in 100 g Trockensubstanz.

$$45 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,0616 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$$

das sind 0,1369 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 18,659 g des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 45 g Trockensubstanz ergaben 6,593 mg AgJ. Daraus errechnen sich 0,0139 g CH₃NH₂HCl in 100 g Trockensubstanz.

2. 8,855 mg desselben Gemenges lieferten 4,157 mg AgJ. Das sind 0,0185 g CH₃NH₂HCl in 100 g Trockensubstanz.

2. 9,739 mg desselben Gemenges lieferten 4,685 mg AgJ. Daraus folgen 0,0334 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 100 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 100 g Trockensubstanz enthalten 0,0286 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0131 g CH_3NH_2 und 0,0059 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,2409 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,0286 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \text{ ,, 100 g ,,} \\ \hline 0,2123 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,0675 g NH_3 und 0,0556 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

2. *Enteromorpha Linza.*

$$\begin{array}{r} 37 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,2734 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl} \end{array} \right. \\ 37 \text{ g ,, ,, 0,0262 g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl,} \end{array}$$

das sind 0,0438 g $(\text{CH}_2)_3\text{N}$ und 0,0104 g $(\text{CH}_2)_3\text{N-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

$$37 \text{ g Trockensubstanz [lieferten } 0,2472 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$$

das sind 0,6681 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 38,426 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat aus 37 g Trockensubstanz lieferten 4,448 mg AgJ. Das sind 0,0074 g CH_3 in 1 g Gemenge.

2. 27,424 mg desselben Gemenges lieferten 3,605 mg AgJ. Dies entspricht 0,0084 g CH_3 in 1 g Gemenge.

Mittelwerte: $\text{CH}_3 = 0,0079$ g in 1 g Gemenge. Dies entspricht 0,0238 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0109 g CH_3NH_2 und 0,0049 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,6681 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,0238 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \text{ ,, 100 g ,,} \\ \hline 0,6443 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,2047 g NH_3 und 0,1686 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

3. *Cladophora rupestris.*

$$\begin{array}{r} 40 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,1510 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl} \end{array} \right. \\ 40 \text{ g ,, ,, 0,0070 g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl,} \end{array}$$

das sind 0,0108 g $(\text{CH}_2)_3\text{N}$ und 0,0025 g $(\text{CH}_2)_3\text{N-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

$$40 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,1480 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$$

das sind 0,3700 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 28,398 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat lieferten 2,743 mg AgJ. Daraus berechnen sich 0,0103 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 100 g Trockensubstanz.

2. 25,213 mg desselben Gemenges ergaben 1,743 mg AgJ. Das sind 0,0074 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 100 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 100 g Trockensubstanz enthalten 0,0088 g CH_3NH_2HCl , 0,0040 g CH_3NH_2 und 0,0018 g CH_3NH_2-N .

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,3700 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,0088 \text{ g } CH_3NH_2HCl \text{ ,, 100 g ,,} \\ \hline 0,3612 \text{ g } NH_4Cl \text{ in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,1148 g NH_3 und 0,0945 g NH_3-N in 100 g Trockensubstanz.

4. *Ulva curvata.*

$$\begin{array}{r} 25 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,2556 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \\ (CH_3)_3NHCl \end{array} \right\} \\ 25 \text{ g ,, ,, ,, } 0,0051 \text{ g } (CH_3)_3NHCl, \end{array}$$

das sind 0,0126 g $(CH_3)_3N$ und 0,0030 g $(CH_3)_3N-N$ in 100 g Trockensubstanz.

$$25 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,2505 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \end{array} \right\}$$

das sind 1,0020 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 29,058 mg der Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat ergaben 8,192 mg AgJ. Daraus folgen 0,0180 g CH_3 in 1 g Gemenge.

2. 21,980 mg desselben Gemenges lieferten 6,372 mg AgJ. Das sind 0,0186 g CH_3 in 1 g Gemenge.

Mittelwerte: $CH_3 = 0,0183$ g in 1 g Gemenge. Das sind 0,0825 g CH_3NH_2HCl , 0,0379 g CH_3NH_2 und 0,0171 g CH_3NH_2-N in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 1,002 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,083 \text{ g } CH_3NH_2HCl \text{ ,, 100 g ,,} \\ \hline 0,919 \text{ g } NH_4Cl \text{ in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,0292 g NH_3 und 0,0240 g NH_3-N in 100 g Trockensubstanz.

III. Rotalgen.

1. *Ceramium rubrum.*

$$\begin{array}{r} 20 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,3298 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \\ (CH_3)_3NHCl \end{array} \right\} \\ 20 \text{ g ,, ,, ,, } 0,1628 \text{ g } (CH_3)_3NHCl, \end{array}$$

das sind 0,5030 g $(CH_3)_3N$ und 0,1194 g $(CH_3)_3N-N$ in 100 g Trockensubstanz.

$$20 \text{ g Trockensubstanz ergaben } 0,1670 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} NH_4Cl \\ CH_3NH_2HCl \end{array} \right\}$$

das sind 0,8350 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 27,846 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat aus 20 g Trockensubstanz lieferten 8,526 mg AgJ. Daraus folgen 0,0736 g CH_3NH_2HCl in 100 g Trockensubstanz.

2. 28,478 mg desselben Gemenges lieferten 8,454 mg AgJ. Daraus folgen 0,0714 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in 100 g Trockensubstanz.

Mittelwerte: 100 g Trockensubstanz enthalten 0,0725 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ 0,0333 g CH_3NH_2 und 0,0150 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,8350 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,0725 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\ \hline 0,7625 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,2423 g NH_3 und 0,1995 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

2. *Rhodomela subfusca.*

$$\begin{array}{r} 10 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,2627 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl} \end{array} \right. \\ 10 \text{ g} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad 0,0800 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl,} \end{array}$$

das sind 0,4942 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ und 0,1173 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

10 g Trockensubstanz ergaben 0,1827 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$
das sind 1,827 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 21,801 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat aus 10 g Trockensubstanz lieferten 7,097 mg AgJ. Dies entspricht 0,0208 g CH_3 in 1 g Gemenge.

2. 18,833 mg desselben Gemenges lieferten 6,243 mg AgJ. Daraus folgen 0,0212 g CH_3 in 1 g Gemenge.

Mittelwerte: In 1 g Gemenge sind 0,0210 g CH_3 enthalten. Daraus folgen 0,1727 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0793 g CH_3NH_2 und 0,0358 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 1,8270 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in 100 g Trockensubstanz} \\ - 0,1727 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\ \hline 1,6543 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl in 100 g Trockensubstanz,} \end{array}$$

das sind 0,5256 g NH_3 und 0,4328 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

3. *Chondrus crispus.*

$$\begin{array}{r} \text{a) } 25 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,1828 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl} \end{array} \right. \\ 25 \text{ g} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad 0,0081 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl,} \end{array}$$

das sind 0,0200 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ und 0,0048 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ in 100 g Trockensubstanz.

25 g Trockensubstanz lieferten 0,1747 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$
das sind 0,6988 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 25,001 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat lieferten 3,673 mg AgJ. Dies entspricht 0,0094 g CH_3 in 1 g Gemenge.

2. 24,878 mg desselben Gemenges ergaben 3,061 mg AgJ, das sind 0,0078 g CH₃ in 1 g Gemenge.

Mittelwerte: CH₃ = 0,0086 g in 1 g Gemenge, das sind 0,0270 g CH₃NH₂HCl, 0,0124 g CH₃NH₂ und 0,0056 g CH₃NH₂-N in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,6988 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 100 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0270 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \text{ ,, } 100 \text{ g} \text{ ,,} \\ \hline 0,6718 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 100 \text{ g Trockensubstanz} \end{array}$$

das sind 0,2135 g NH₃ und 0,1758 g NH₃-N in 100 g Trockensubstanz.

$$\begin{array}{r} \text{b) } 25 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,1931 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \\ (\text{CH}_3)_2\text{NHCl} \end{array} \right\} \\ 25 \text{ g} \text{ ,,} \text{ ,,} \text{ ,,} 0,0060 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \end{array}$$

das sind 0,0148 g (CH₃)₃N und 0,0035 g (CH₃)₃N-N in 100 g Trockensubstanz.

$$25 \text{ g Trockensubstanz lieferten } 0,1871 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\}$$

das sind 0,7484 g in 100 g Trockensubstanz.

Methylimidanalysen. 1. 25,385 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat aus 25 g Trockensubstanz lieferten 3,669 mg AgJ, das sind 0,0093 g CH₃ in 1 g Gemenge.

2. 31,243 mg desselben Gemenges ergaben 5,099 mg AgJ, das sind 0,0104 g CH₃ in 1 g Gemenge.

Mittelwerte: CH₃ = 0,0099 g in 1 g Gemenge, das sind 0,0333 g CH₃NH₂HCl, 0,0153 g CH₃NH₂ und 0,0069 g CH₃NH₂-N in 100 g Trockensubstanz.

Salmiakberechnung.

$$\begin{array}{r} 0,7484 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right\} \text{ in } 100 \text{ g Trockensubstanz} \\ - 0,0333 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \text{ ,, } 100 \text{ g} \text{ ,,} \\ \hline 0,7151 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ in } 100 \text{ g Trockensubstanz}, \end{array}$$

das sind 0,2272 g NH₃ und 0,1871 g NH₃-N in 100 g Trockensubstanz.

Zusammenfassung.

1. Es wurden verschiedene Vertreter von Süßwasser- und Seewasserpflanzen und Süßwasserplankton auf einen etwaigen Gehalt an methylierten Aminen geprüft.

2. Zwischen den Süßwasser- und Seewasserpflanzen besteht ein wesentlicher Unterschied im Chemismus, gekennzeichnet dadurch, daß nur die letzteren Trimethylamin enthalten. Monomethylamin findet sich in beiden Pflanzentypen, wenngleich bei den Seepflanzen in größerer Menge. Die Ammoniakwerte sind allenthalben, weil regellos schwankend, als uncharakteristisch anzusehen.

3. D

bewegt s

Methyla

für 100 g

4. S

und Met

5. V

Braun-

der Grün

amingeh:

Die Bra

Monome

Auf

gewonne

und Rho

verfügen

der Trin

niedrig (

der unte

Trocken

6. I

Amine si

7. I

an Gold

und die

8. I

aminchl

amin de

9. I

vorhand

der Nah

sicherlic

Die

gewesen,

Abteilun

Wissensc

material

Ratschlä

wir ihm

3. Der Methylamingehalt der untersuchten Süßwasserpflanzen bewegt sich zwischen 1,5 und 4 mg für 100 g Trockensubstanz. Der Methylaminwert der Elodea ist auffallenderweise viel höher (30 mg für 100 g Trockensubstanz).

4. Süßwasserplankton enthält kein Trimethylamin, Ammoniak und Methylamin nur in Spuren.

5. Von den Seealgen gelangten einzelne Vertreter von *Grün-*, *Braun-* und *Rotalgen* zur Untersuchung. Der Trimethylamingehalt der Grünalgen bewegt sich zwischen 10 und 44 mg, der Monomethylamingehalt liegt zwischen 11 und 40 mg für 100 g Trockensubstanz. Die Braunalgen enthalten rund 50 mg Trimethylamin und etwa 10 mg Monomethylamin.

Auffallende Ergebnisse wurden bei der Untersuchung der Rotalgen gewonnen. Während zwei Vertreter dieser Gruppe *Ceramium rubrum* und *Rhodomela subfusca* über einen sehr großen Trimethylamingehalt verfügen (rund 0,5 g Trimethylamin in 100 g Trockensubstanz) ist der Trimethylaminwert der Rotalge *Chondrus crispus* relativ sehr niedrig (17 mg in 100 g Trockensubstanz). Die Monomethylaminwerte der untersuchten Rotalgen liegen zwischen 14 und 80 mg für 100 g Trockensubstanz.

6. Für die Menge der in den Seepflanzen auftretenden methylierten Amine sind gewisse verwandtschaftliche Beziehungen nicht maßgebend.

7. Es werden Fütterungsversuche mit Trimethylaminchlorhydrat an Goldfischen und großen ungarischen Wasserfröschen beschrieben und die Methodik der Fütterung geschildert.

8. Es konnte gezeigt werden, daß nach Fütterung von Trimethylaminchlorhydrat im Muskel des Kaltblüters geringe Mengen Trimethylamin deponiert werden.

9. Es wird die Möglichkeit der Herkunft der in den Seefischen vorhandenen methylierten Amine und des Trimethylaminoxyds aus der Nahrung erörtert, wenngleich auch andere biologische Möglichkeiten sicherlich nicht auszuschließen sind.

Die Ausführung vorliegender Untersuchungen wäre uns unmöglich gewesen, wenn uns nicht Herr *Leopold v. Portheim*, Vorstand der botanischen Abteilung der Biologischen Versuchsanstalt der Wiener Akademie der Wissenschaften, lebenswürdigerweise mit dem erforderlichen Pflanzenmaterial versehen hätte. Für seine Bemühungen und seine wertvollen Ratschläge, welche er uns in weitgehender Weise zuteil werden ließ, möchten wir ihm auch an dieser Stelle unseren herzlichen Dank aussprechen.

Zirm, Konrad L. und Johann Benedict. Eine titrimetrische Methode zur Bestimmung der Aminosäuren im Blutserum	312
Seekles, L., B. Sjollema und F. C. van der Kaay. Die Wirkungsweise des Calciums. I. Mitteilung: Die Wirkung von intravenösen Calciumsalzeinspritzungen auf das Herz von Rindern mit gestörtem mineralen Regulierungsmechanismus. Die Abhängigkeit der Herzwirkung des Calciums von der mineralen Zusammensetzung des Blutserums	316
Tagawa, Jusamuro. Über die magensekretionserregende Wirkung der salzsauren Aminosäuren. I. Mitteilung: Experimente am Menschen	330
— Über die magensekretionserregende Wirkung der salzsauren Aminosäuren. II. Mitteilung: Experimente an Hunden mit Kleinmagen .	344
— Über die magensekretionserregende Wirkung der salzsauren Aminosäuren. III. Mitteilung: Experimente am Menschen bei duodenaler Einführung	355
Brandt, W., H. Mattis und E. Nolte. Über die Einwirkung verschiedener Jodeiweiß-Spaltprodukte auf Entwicklungs- und Regenerationsvorgänge	369
Staffe, A. Wirkt die Katalase sauerstoffsparend?	380
Negelein, Erwin. Verbrennung von Kohlenoxyd zu Kohlensäure durch grüne und mischfarbene Hämone	386
Sjollema, B. und J. W. Dienske. Die Bestimmung von Natrium in organischen Substanzen mit hohem Kaliumgehalt	396
Simon, Ernst. Aldehyd-dismutation und Essiggärung	401
Kobel, Maria. Die Bildung äquimolekularer Mengen von Glycerin und Brenztraubensäure bei der zellfreien Vergärung von Glucose .	406
Hofmann, Eduard. Über den Abbau von Glucose-ureid durch Bakterien	416
— Über die Bildung von Oxalsäure aus Uronsäuren durch <i>Aspergillus niger</i>	423
— Über die Verhältnisse bei der carboxylatischen Spaltung der α -Oxon-valeriansäure	429
Neuberg, Carl und Maria Kobel. Über die Ausführung der Reaktion von Alduronsäuren mit Naphthoresorcin	435
— — Über den Mechanismus des Abbaus von Zucker durch das Thermobakterium mobile Lindner	451
Neuberg, Carl und Max Scheuer. Pektin des Tabaks	461
Neuberg, Carl und Joseph Burkard. Über neue stickstofffreie Bestandteile des Tabakrauches	472

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Soeben erschien:

Die mitogenetische Strahlung

zugl. zweiter Band der „Probleme der Zellteilung“

Von

Professor Dr. **Alexander Gurwitsch**

Institut für experimentelle Medizin in Leningrad

Unter Mitwirkung von

Lydia Gurwitsch

Mit 70 Abbildungen. IX, 384 Seiten. 1932. RM 32.—; gebunden RM 33.80

(Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Bd. XXV)

Inhaltsübersicht:

Erster Teil: **Physik und Chemie der mitogenetischen Strahlung.** Prinzipielles über die Methodik des Nachweises des Induktionseffektes. Physikalisches über mitogenetische Strahlen. Die Energetik der mitogenetischen Strahlung. — Zweiter Teil: **Das Auftreten mitogenetischer Strahlung im Haushalte der Organismen.** Pflanzen als mitogenetische Quellen. Mitogenetische Strahlung während der Furchung und Embryonalentwicklung. Mitogenetische Strahlung des Blutes. Tierische Gewebe als Strahlungsquellen. Das Karzinom. — Dritter Teil: **Der mitogenetische Effekt.** Die Phänomenologie des mitogenetischen Effektes. Die allgemeinen Gesetze mitogenetischer Erregung. Sekundärstrahlung und Fortleitung des mitogenetischen Erregungszustandes. Theorie des mitogenetischen Effektes. — Nachwort. Literatur- und Sachverzeichnis.

Das Problem der Zellteilung, physiologisch betrachtet

(Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Band XI.) Mit 74 Abbildungen. VIII, 222 Seiten. 1926. RM 16.50*

Zellteilung und Strahlung

Von Dr. med. **T. Reiter** und Dr.-Ing. **D. Gábor.** Sonderheft der „Wissenschaftlichen Veröffentlichungen aus dem Siemens-Konzern“. Herausgegeben von der Zentralstelle für wissenschaftlich-technische Forschungsarbeiten des Siemens-Konzerns. Mit 212 Textbildern und 3 Tafeln. IV, 184 Seiten. 1928. RM 18.—*

Mikroskopische Anatomie d. lebendigen Masse

(Bildet Band I vom „Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen“, herausgegeben von **W. v. Möllendorff**, Freiburg i. Br.)

Der Band ist nur geschlossen käuflich.

Erster Teil: **Allgemeine mikroskopische Anatomie und Organisation der lebendigen Masse.** Mit 453 zum Teil farbigen Abbildungen. XII, 626 Seiten. 1929. RM 132.—; gebunden RM 138.80*

Zweiter Teil: **Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse.** Bearbeitet von **Dr. F. Wassermann**, Professor an der Universität München. Mit 464 zum Teil farbigen Abbildungen. IX, 807 Seiten. 1929. RM 148.—; gebunden RM 156.—*

Körper und Keimzellen

Von **Jürgen W. Harms**, Professor an der Universität Tübingen. (Band IX der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere“.) Mit 309, darunter auch farbigen Abbildungen. In zwei Teilen. XIV, 1024 Seiten. 1926. Jeder Teil RM 33.—; gebunden RM 34.50*

Beide Teile werden nur zusammen abgegeben.

* Auf die vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Notnachlaß von 10% gewährt.

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedmann-Moskau, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Stockholm, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. Mc Kenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Char-kow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianisch-nikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidel-berg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzar-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 248. Band, 1.— 3. Heft

Regine Kapeller-Adler und Michael Rubinstein:

Über die Glykogenbildung

in der Leber von Ratten bei reiner Fettfütterung.

Ein Beitrag zur Frage der Zuckerbildung aus Fett



Berlin

Verlag von Julius Springer

1932



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber
Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *M* 40.— für den 16seitigen Druckbogen. Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

248. Band

Inhaltsverzeichnis

1.—3. Heft

	Seite
Spiro, Karl †	1
Bersin, Theodor. Über die Beschleunigung der Autoxydation von Mercaptoverbindungen durch organische Katalysatoren. Ein Beitrag zur Erklärung der Wirkung von Jodessigsäure auf die Glykolyse im Muskel	3
Laser, Hans. Manometrische Atmungsmessungen an der intakten Warmblüterlunge	9
Przyłęcki, St. J. von und M. Z. Grynberg. Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. VI. Teil: Geronnenes Ovalbumin und verschiedene Kohlenhydrate	16
Magistris, Hugo. Über die Biochemie der Nebennierenrinde. I. Mitteilung: Darstellung und Nachweis des Hormons der Nebennierenrinde.	39

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

**Über die Glykogenbildung
in der Leber von Ratten bei reiner Fettfütterung.
Ein Beitrag zur Frage der Zuckerbildung aus Fett.**

Von

Regine Kapeller-Adler und Michael Rubinstein.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 18. März 1932.)

I.

Die Frage der Zuckerbildung aus Fett bildet eines der strittigsten Probleme auf dem Gebiet der Stoffwechselphysiologie. Es ist daher nur selbstverständlich, daß diese Frage Gegenstand mannigfacher Untersuchungen und Erörterungen verschiedenster Autoren geworden und von vielen Gesichtspunkten aus betrachtet worden ist. Die diesbezügliche Literatur ist derart umfangreich, daß wir uns im Rahmen vorliegender Arbeit auf das Zitieren der allerletzten Arbeiten beschränken müssen¹.

Was den gegenwärtigen Stand der Frage der Zuckerbildung aus Fett anlangt, so verhält sich die Sache so, daß bisher eine Zuckerentstehung aus hohen Fettsäuren weder mit Sicherheit nachgewiesen noch mit Entschiedenheit widerlegt werden konnte. Die Frage steht vielmehr noch immer in Diskussion, und es gibt fast ebenso viele Gegner wie Anhänger der Hypothese der Zuckerbildung aus Fett, wobei in vielen Fällen, in denen eine Zuckerbildung aus Fett wahrscheinlich gemacht worden ist, es keineswegs bewiesen ist, daß der Zucker tatsächlich aus hohen Fettsäuren entstanden ist und daß das vorhandene Glycerin, an dessen zuckerbildenden Funktion zu zweifeln kein Anlaß vorliegt, nicht eine ausreichende Erklärung für die beobachtete Zuckerentstehung bildet.

¹ Betreffs der älteren Literatur sei auf die Angaben in *O. Fürths* Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie 2, 223—229, verwiesen.

R. Kap

We
schließe
aus Fet
schieden
Junkers
ständige
Auch le
als für

Ca
Feststel
verstärk
Kohlen

Stö
bedingt
Chaiko,
Versuch
Ei
nehmen

Jo
manch
spricht

Al
der Th
Unters

G.
aussch
Nichtk
die Mö
kenner
Wirku

Zu
unter

G.
Fett b
Arbeit
sprich

T
der K

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

Wertheimer¹ glaubt aus seinen Versuchen an Phlorrhizinhunden schließen zu sollen, daß Adrenalin und Insulin die Kohlenhydratbildung aus Fett in der Leber katalysieren, wenn auch beide Hormone an verschiedenen Punkten der Stoffwechselregulation anzugreifen scheinen. Junkersdorf² folgert aus seinen Versuchen, daß unter Adrenalin eine ständige Neubildung von Glykogen aus Nichtkohlenhydraten stattfindet. Auch legt er auf eine Fettinfiltration der Leber unter Adrenalinwirkung als für Adrenalin spezifisch einen besonderen Wert.

Calvo-Criado³ hat an fast kohlenhydratfrei gemachten Tieren die Feststellung gemacht, daß durch Zufuhr von Fett oftmals die Glykosurie verstärkt wird, und bezieht die vermehrte Zuckerausscheidung auf eine Kohlenhydratneubildung aus Fett.

Störing⁴ spricht sich in seiner Arbeit ebenfalls für eine durch Adrenalin bedingte Umformung von Fett in Kohlenhydrate aus. Weiter nehmen Chaikoff und J. J. R. Macleod⁵ und Chaikoff und Weber⁶ auf Grund ihrer Versuche die Möglichkeit einer Zuckerbildung aus Fett an.

Einen etwas zurückhaltenderen Standpunkt bezüglich dieser Frage nehmen einige andere Autoren ein.

Jost⁷ meint, daß unter Berücksichtigung verschiedener Gesichtspunkte manche Tatsache, die gegen die Möglichkeit einer Zuckerbildung aus Fett spricht, an Beweiskraft einbüße.

Abelin, Goldener und Kobori⁸ bezeichnen sich zwar nicht als Gegner der Theorie der Zuckerbildung aus Fett, können jedoch nicht aus ihren Untersuchungen eine Umformung von Fett in Leberglykogen folgern.

C. F. Cori und G. T. Cori⁹ behaupten, daß es sich nicht mit Sicherheit ausschließen läßt, daß das in der Leber angehäuften Glykogen auch von Nichtkohlenhydraten stamme. Geiger und Schmidt¹⁰ leugnen zwar ebenfalls die Möglichkeit einer Neubildung von Kohlenhydraten aus Fett keineswegs, kennen aber einstweilen keine Tatsache, welche eine diesen Prozeß fördernde Wirkung des Adrenalins beweisen würde.

Zu den ausgesprochenen Gegnern der erwähnten Theorie gehören unter anderen G. Lusk¹¹ und Thannhauser¹².

G. Lusk behauptet, daß Adrenalin keine Entstehung von Zucker aus Fett hervorrufe. Der Fettgehalt der Muskeln bleibe auch dauernd bei der Arbeit unverändert, was gegen die Bildung von Kohlenhydraten aus Fett spricht.

Thannhauser meint, daß Formulierungen bezüglich der Entstehung der Kohlenhydrate aus Fett möglich seien, ein experimenteller Hinweis

¹ Pflügers Arch. 213, 287, 1926; Arch. f. exper. Pathol. 139, 378, 1928.

² Pflügers Arch. 211, 415, 1926; 216, 549, 1927.

³ Diese Zeitschr. 164, 76, 1925.

⁴ Pflügers Arch. 221, 282, 1928.

⁵ J. of biol. Chem. 74, 203, 1927.

⁶ Ebendasselbst 76, 813, 1928.

⁷ Bethes Handb. 5, 619.

⁸ Diese Zeitschr. 174, 232, 1926.

⁹ Ebendasselbst 206, 39, 1929.

¹⁰ Arch. f. exper. Pathol. 139, 381, 1929.

¹¹ Diese Zeitschr. 156, 334, 1925.

¹² Deutsch. med. Wochenschr. 53, 1676, 1927.

sei jedoch bisher nicht gefunden worden. An keiner Stelle wäre bisher ein sicherer Beweis für den Umbau der Fettsäuren zu Kohlenhydraten erbracht worden.

Soweit der bisherige Stand dieses Problems.

Fürth und *Engel*¹ haben gefunden, daß die Leber von Adrenalin-kaninchen noch über beträchtliche Kohlenhydratmengen verfüge (1,97 bis 2,25%), wenn auch der Harn bereits zuckerfrei geworden ist, so daß sie zu dem Schluß kommen, daß die Vorstellung, der Harn wäre nach wiederholten Adrenalininjektionen zuckerfrei, sobald die Glykogendepots in der Leber erschöpft seien, an Wahrscheinlichkeit verliere.

In Hinblick auf diese Feststellung sowie im Zusammenhang mit den aus der Literatur her bekannten und obenerwähnten Beobachtungen, sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Einwirkung von *Adrenalin*, *Cocain*, *Phlorrhizin* und *Insulin* auf die Kohlenhydratspeicherung in der Leber von Ratten bei reiner Fettfütterung untersucht werden. Eignen sich doch Ratten besser als andere Versuchstiere für Versuche über protrahierte reine Fettfütterung. Wir hofften dabei Anhaltspunkte zu gewinnen, ob vielleicht der eine oder der andere der genannten Stoffe befähigt sei, eine etwaige Zuckerbildung aus Fett derart zu katalysieren, daß eine Kohlenhydratneubildung in einer Glykogenspeicherung in der Leber zutage träte.

II.

Die Versuche wurden an ausschließlich mit Fett gefütterten Ratten unternommen. Die Versuchsanordnung war folgende: Die Ratten wurden einzeln in Käfigen gehalten, und zwar befand sich das Tier auf einem Drahtnetz, auf welches auch eine Wasserschale sowie eine Schale mit 50 bis 60 g Speck gebracht wurden. Die Versuchsdauer betrug 4 bis 8 Tage. Nach beendetem Versuch wurde der überschüssige Speck zurückgewogen. Vor Beginn des Versuchs wurden die Ratten grundsätzlich 1 Tag hungern gelassen, um ihre Leber von Glykogen zu entleeren. Zwecks Erlangung von Normalwerten bei reiner Speckfütterung wurde eine Serie von vier Ratten lediglich mit Speck gefüttert. Bei den übrigen Ratten wurde an dem dem Hungertag folgenden Tage mit der Verabfolgung von Injektionen begonnen, welche sämtlich subcutan ausgeführt worden sind.

Zur Injektion gelangten in verschiedenen Serien folgende Stoffe: *Suprarenin*. hydrochloric. synth. „Höchst“, *Cocain*. hydrochlor., *Suprarenin* und *Cocain* gleichzeitig, *Phlorrhizin* und *Insulin* „Kahlbaum“.

¹ Diese Zeitschr. 237, 160, 1931.

Wä
um fest
den Ein
eine Ge
für eini
irrefü
wieder
eine gr
so eine
meister
form g
Zu
Fettgeh
fältig l
Da
Popp
einer l
lösung
I
Hydro
und al
lysats
Poppe
Origin
Z
mit K
Das t
kleine
Extra
gewog
befrei
woger
A
Gewic
der je
errec
I
erhal
1

Während des Versuchs wurde das Gewicht der Versuchstiere geprüft, um feststellen zu können, ob die Injektionen nicht etwa einen schädigenden Einfluß auf den Ernährungszustand der Tiere ausübten. Wurde eine Gewichtsabnahme beobachtet, so unterbrachen wir den Versuch für einige Zeit, um nicht durch eine etwaige Zuckerbildung aus Eiweiß irreführt zu werden, und setzten ihn fort, nachdem sich die Tiere wieder erholt hatten. Mitunter wurde auch bei der letzten Injektion eine größere Dosis des einzuverleibenden Stoffes verabfolgt, weil wir so eine ausgeprägtere Wirkung zu erzielen hofften. Die Tiere wurden meistens schon 3 bis 4 Stunden nach der letzten Injektion durch Chloroform getötet und die frisch entnommenen Lebern analysiert.

Zur Untersuchung gelangte der *Gesamtkohlenhydrat*- und der *Fettgehalt* der Leber, nachdem das Gesamtgewicht der letzteren sorgfältig bestimmt worden war.

Das *Gesamtkohlenhydrat* wurde nach der Methode von *Dische* und *Popper*¹ bestimmt. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Bildung einer braunen Färbung beim Erhitzen von wässrigen Kohlenhydratlösungen mit starker Salz- oder Schwefelsäure in Gegenwart von Indol.

1 g der genau abgewogenen Leber wurde einer zweistündigen Hydrolyse mit 2,2%ig. Salzsäure am siedenden Wasserbad unterworfen und aliquote Teile des auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllten Hydrolysats der kolorimetrischen Kohlenhydratbestimmung nach *Dische-Popper* unterzogen. Bezüglich des näheren Verfahrens sei auf die Originalarbeit verwiesen.

Zur *Bestimmung des Fettes* wurde 1 g Leber in einer Reibschale mit Kieselgur fein zerrieben und 3 Stunden bei etwa 100° getrocknet. Das trockene Material wurde quantitativ in die Extraktionshülse eines kleinen *Soxhletschen* Apparats gebracht und einer dreistündigen Extraktion mit Petroläther unterworfen. Der Extrakt wurde in einem gewogenen Bechergläschen von Petroläther durch Abdunstenlassen befreit, der Rückstand bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Aus der Menge des von jeder Ratte getressenen Specks, aus dem Gewicht der Ratte und der Versuchsdauer haben wir den Kaloriengehalt der jeder Ratte zugeführten Nahrung pro Tag und 100 g Körpergewicht errechnet, wobei 1 g Speck 7 Kalorien gleichgesetzt wurde.

III.

In den folgenden Tabellen bringen wir die in unseren Versuchen erhaltenen Ergebnisse.

¹ Diese Zeitschr. 175, 371, 1926.

Tabelle I.

Normalversuch. Ersten Tag Hunger, zweiten bis sechsten bzw. siebenten Tag reine Speckfütterung.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
F	145		134	56	47	5,50	2,8	7,17	6	
H	140		135	50	42,4	4,95	2,8	5,34	6	
E	130		123	40	44,2	5,90	2,5	7,60	5	
G	120		112	40	48,2	6,20	2,2	5,00	5	

Tabelle II.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis sechsten Tag je 0,05 mg Supraren. hydrochloric. pro 100 g Körpergewicht injiziert.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
E	205	195	200	52	35,95	10,7	2,3	11,36	5	5
G	220	215	207	42	27,50	10,1	1,9	6,88	5	5

Tabelle III.

Ersten Tag Hunger, zweiten Tag 0,05 mg, dritten bis fünften Tag 0,10 mg, sechsten Tag 0,15 mg Supraren. hydrochloric. synth. injiziert.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Ge- wicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
G	260	240	232	30	17,1	13,2	0,60 0,46 } 0,53	5,8 6,3 } 6,05	5	5*
E	243	225	220	25	15,1	9,4	0,60 0,44 } 0,52	2,00 1,89 } 1,94	5	5*
H	220	205	198	15	10,1	9,5	0,44 0,50 } 0,47	2,30	5	5*
F	260	235	225	35	20,2	8,5	0,60 0,70 } 0,65	1,00	5	5*

* Gefütet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle IV.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis vierten Tag 0,1 mg, fünften Tag 0,15 mg
Supraren. hydrochloric. synth.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- Kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
2	173	170	160	42	44,2	7,4	1,00	5,00	4	4*
3	225	220	212	39	31,7	12,6	0,82 0,86	0,84 4,20	4	4*
4	154	150	140	37	44,0	7,3	0,80 0,85	0,82 3,20	4	4*

* Getötet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle V.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis fünften Tag 0,1 mg Supraren. hydro-
chloric. synth.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- Kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
1		140	136	25	31,7	6,6	1,30 1,20	1,25 3,40	4	4*
2		178	175	19	18,8	6,0	2,30	1,90	4	4*

* Getötet 5 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle VI.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis fünften Tag 0,1 mg, sechsten Tag 0,15 mg
Supraren. hydrochloric. synth.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
1		120	115	22	26,2	5,8	0,47 0,50	0,48 4,0	5	5*
2		130	120	26	29,1	7,3	0,49 0,50	0,49 2,5	5	5*
3		180	170	25	20,0	7,8	1,01	4,0	5	5*

* Getötet 2 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle VII.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis siebenten Tag 0,2 ccm einer 4⁰/₁₀₀igen Lösung Cocain. hydrochloric. pro 100 g Körpergewicht.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen	
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such								
F	150	145	143	42	33,4	7,0	2,30 2,16	2,23	4,0	6	6*
H	135	130	132	45	39,3	7,6	2,80 2,60	2,70	4,4	6	6*
E	230	223	230	60	30,4	12,1	1,30		7,9	6	6*

* Getötet am nächsten Tage.

Tabelle VIII.

Ersten Tag Hunger, zweiten Tag 0,2 ccm, dritten bis siebenten Tag 0,4 ccm einer 4⁰/₁₀₀igen Lösung Cocain. hydrochloric.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen	
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such								
F	225	215	211	60	32,1	11,2	0,90 0,83	0,86	6,45	6	6*
H	215	208	200	52	29,2	10,4	0,42 0,35	0,38	6,39	6	6*
K	200	194	170	42	26,5	7,8	0,40 0,34	0,36	1,00	6	6*

* Getötet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle IX.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis siebenten Tag 0,05 mg Supraren. hydrochloric. und 0,2 ccm einer 4⁰/₁₀₀igen Lösung von Cocain. hydrochloric.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such							
1	190	180	175	42	26,8	9,6	0,63	9,07	6	6*
3	195	185	188	48	29,2	11,0	0,76	7,90	6	6*

* Getötet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Ersten
einer 1,
vierten

Ratte
Nr.

1 2

2 2

3 1

4 1

5 1

6

Erster
Körper
hydro

Ratte

Nr.

1

3

5

6

Tabelle X.

Ersten Tag Hunger; zweiten Tag 0,015 g Phlorrhizin, gelöst in 0,5 ccm einer 1,2%igen Sodalösung, pro 100 g Körpergewicht injiziert; dritten bis vierten Tag keine Injektion; fünften bis neunten Tag 0,015 g Phlorrhizin in 0,5 ccm einer 1,2%igen Sodalösung.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen	
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such								
1	212	210	198	58	24,8	9,0	0,73 0,69	0,71	5,0	8	6*
2	212	212	180	58	26,0	8,8	0,40		1,8	8	6*
3	156	155	125	49	30,5	6,9	0,70 0,70		2,8	8	6*
4	170	170	135	54	31,0	8,4	0,37 0,39	0,38	2,0	8	6*
5	173	170	140	52	29,1	8,5	0,51 0,43	0,47	4,0	8	6*
6	182	180	165	50	25,2	8,1	0,38 0,33	0,35	1,54	8	6*

* Getötet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle XI.

Ersten Tag Hunger; zweiten Tag 0,1 mg Supraren. hydrochloric. pro 100 g Körpergewicht injiziert; dritten bis siebenten Tag 0,05 mg Supraren. hydrochloric. und 0,015 g Phlorrhizin, gelöst in 0,5 ccm einer 1,2%igen Sodalösung, pro 100 g Körpergewicht injiziert.

Ratte Nr.	Gewicht			Ver- fütterter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Gewicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen	
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such								
1	155	155	134	43	34,7	7,4	0,40 0,40		3,0	6	6*
3	180	178	158	37	25,5	9,1	0,34 0,36	0,35	5,0	6	6*
5	173	170	145	42	30,0	10,5	0,36 0,33	0,34	1,9	6	6*
6	196	190	170	37	23,6	7,6	0,38		4,2	6	6*

* Getötet 3 Std. nach der letzten Injektion.

Tabelle XII.

Ersten Tag Hunger, zweiten bis sechsten Tag je $\frac{1}{2}$, 1, 2 Einh. Insulin „Kahlbaum“ pro 100 g Körpergewicht injiziert.

Ratte Nr.	Gewicht			Verfitteter Speck g	Kalorien pro Tag und 100 g Körper- gewicht	Ge- wicht der Leber g	Gesamt- kohlen- hydrat %	Fett %	Ver- suchs- dauer in Tagen	Zahl der Injek- tionen	
	vor dem Ver- such	nach ein- tägigem Hunger	nach dem Ver- such								
H } täglich {	190	175	180	37	28,0	8,9	0,70 0,86	0,78	4,8	5	5*
E } $\frac{1}{2}$ Einh. {	155	150	153	40	36,4	5,9	0,70 0,66	0,68	3,8	5	5*
3 } täglich {		165	170	42	35,0	7,1	0,80		4,0	5	5*
4 } $\frac{1}{2}$ Einh. {		160	160	34	29,8	7,5	2,4 2,1	2,25	3,4	5	5*
5 } täglich {		235	225	37	22,5	8,6	0,90 0,70	0,80	4,4	5	5*
6 } 1 Einh. {		120	125	33	37,7	6,8	1,90		4,5	5	5*
1 } täglich {		170	178	35	28,2	7,0	1,50 1,10	1,30	3,4	5	5*
2 } 2 Einh. {		150	150	40	37,3	6,8	0,90		—	5	5*

* Getötet 4 Std. nach der letzten Injektion.

IV.

Bei der Durchsicht der einzelnen Tabellen kommt man zu folgenden Ergebnissen: Der Lebergesamtkohlenhydratgehalt von Ratten bei reichlicher Fettfütterung betrug rund 2,2 bis 2,8% (Normalwert).

Kleine Gaben von Adrenalin (0,05 mg Suprarenin. hydrochloric. pro Tag und 100 g Körpergewicht) und *Cocain* (0,2 ccm einer 4 $\frac{0}{100}$ igen Lösung von Cocain. hydrochloric. pro Tag und 100 g Körpergewicht) verändern das Lebergesamtkohlenhydrat gegenüber der Norm gar nicht (vgl. Tabelle II und VII).

Bei *stärkeren Adrenalin* dosen fiel der Leberglykogengehalt, und zwar betrug er bei fünftägiger Versuchsdauer und täglichen Gaben von etwa 0,1 mg Suprarenin. hydrochloric. etwa ein Fünftel des Normalwertes (Tabelle III und VI).

Bei viertägiger Versuchsdauer und täglicher Gabe von 0,1 bis 0,15 mg Suprarenin. hydrochloric. ermäßigte sich der Gesamtkohlenhydratwert auf die Hälfte bis ein Drittel der Norm (Tabelle IV und V).

Eine *stärkere Cocain* dosis (0,4 ccm eines 4 $\frac{0}{100}$ igen Lösung von Cocain. hydrochloric. pro Tag und 100 g Körpergewicht) setzte bei

sechstägiger Versuchsdauer in zwei Fällen das Leberkohlenhydrat auf etwa ein Sechstel, in einem Falle auf etwa ein Drittel des Normalwertes herab (Tabelle VIII).

Die *kombinierte Gabe* von *Adrenalin und Cocain* (beide Stoffe in schwacher Dosis appliziert) hatte eine *Verminderung* des *Leberkohlenhydratwertes* auf etwa ein Viertel des Normalen zur Folge, während die gleichen Dosen beider Gifte, jedes für sich injiziert, keine Verschiebung des Kohlenhydratgehaltes gegenüber der Norm hervorriefen (Tabelle IX, II und VII). Adrenalin und Cocain scheinen in ihrer Wirkungsweise einander gegenseitig zu steigern (vgl. auch *Burn* und *Tainter*¹).

Beim *Phlorrhizinversuch* wurde eine *Herabsetzung* des *Leberglykogens* auf ein Viertel bis ein Sechstel der Norm beobachtet (Tabelle X).

Die *kombinierte Applikation* von *Adrenalin und Phlorrhizin* bewirkte eine *Verminderung* des *Gesamtkohlenhydrats* bis zu einem Sechstel des Normalen (Tabelle XI).

Unter Insulin wurden keine einheitlichen Resultate erhalten, doch lagen alle Werte stets unter der Norm (Tabelle XII).

Was die Leberfettwerte der untersuchten Tiere betrifft, so ließen sie, weilregellos schwankend, keinerlei physiologische Schlußfolgerung zu.

Es ist schließlich noch hervorzuheben, daß die untersuchten Ratten sich fast ausnahmslos in gutem Ernährungszustande befunden haben (mit geringen Ausnahmen betrug der Kalorienwert der aufgenommenen Nahrung pro Tag und 100 g Körpergewicht 25 bis 40) und im Laufe des Versuchs keine größere Gewichtsabnahme zeigten.

Zusammenfassend läßt sich nun aussagen, daß trotz ausschließlicher reichlicher Specknahrung und Einwirkung von Adrenalin, Cocain, Phlorrhizin und Insulin, welchen Substanzen ja vielfach eine katalysierende Wirkung auf die Glykogenneubildung zugeschrieben wird, keinerlei Anhaltspunkte für eine Zuckerbildung aus Fett gewonnen werden konnten. In keinem einzigen Falle wurde ein höherer Lebergesamtkohlenhydratwert, als er bei gleicher Ernährung der Norm entspricht, beobachtet, so daß von einer Speicherung des Glykogens in der Leber bei unseren Versuchen nicht die Rede sein kann. Vielmehr liegen die meisten Werte sehr tief unter der Norm, was aber einleuchtet, wenn man die vielfach beobachtete, das Leberglykogen mobilisierende Wirkung obgenannter Substanzen in Betracht zieht.

Die Möglichkeit, daß eine Neubildung von Zucker aus Fett zwar in diesen Fällen stattgefunden habe, daß sich aber der neugebildete Zucker

¹ J. of Physiol. 71, 169, 1931.

nicht in der Leber festsetzen konnte und alsbald mit dem Harn nach außen befördert wurde, läßt sich ja selbstverständlich nicht ausschließen. Als sonderlich wahrscheinlich wird man aber diese Annahme nicht hinstellen dürfen; denn bei den vielfach geänderten Versuchsbedingungen müßte man ja doch wohl erwarten, daß die Zuckerausscheidung in dem einen oder anderen Falle hinter der Glykogenneubildung zurückgeblieben wäre und sich in einer erhöhten Glykogenablagerung in der Leber, die wir aber tatsächlich kein einziges Mal beobachtet haben, manifestiert hätte.

Schließlich sei noch über einige den *Synergismus* von *Adrenalin* und *Cocain* betreffende Versuche berichtet. Daß *Cocain* die Wirkung des *Adrenalins* sensibilisiert, ist bekannt¹ und konnte von uns bestätigt werden (Tabelle IX).

Wir haben nun bei einigen Adrenalinkaninchen den Versuch unternommen, nach Sistierung der Glykosurie durch Cocaininjektionen die Glykosurie wieder in Gang zu bringen, und zwar ließen wir die Kaninchen hungern, spritzten täglich 0,5 ccm Suprarenin. hydrochloric. pro Kilogramm Körpergewicht und untersuchten täglich das Reduktionsvermögen des Harns nach *Bertrand*. Nachdem keine Zuckerausscheidung im Harn mehr nachgewiesen werden konnte, wurden den Kaninchen neben dem Adrenalin noch 5 mg Cocainum hydrochloric. pro Kilogramm Körpergewicht täglich injiziert und der Harn untersucht. Es erschienen nur Spuren neuer reduzierender Substanzen im Harn.

Darauf wurde noch ein anderer Versuch unternommen, und zwar so, daß die Kaninchen nicht mehr hungern gelassen wurden, sondern täglich 150 ccm einer kohlenhydratfreien Nährflüssigkeit, bestehend aus 90 Teilen Wasser, 5 Teilen Fett und 5 Teilen *Witte*-Pepton per Schlundsonde verabfolgt bekamen. Hierauf wurden wieder täglich 0,5 ccm Suprarenin. hydrochloric. pro Kilogramm Körpergewicht gespritzt und nach Aufhören der Zuckerausscheidung außerdem noch 5 mg Cocain. hydrochloric. pro Kilogramm Körpergewicht. Der untersuchte Harn enthielt nur wenige Zehntel Zucker.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß *das Cocain nicht imstande ist, bei Adrenalinkaninchen nach Versiegen der Glykosurie dieselbe wieder in Gang zu bringen.*

Zusammenfassung.

1. Bei *reiner reichlicher Fettfütterung* (Speck, entsprechend 25 bis 40 Kal pro Tag und 100 g Körpergewicht) betrug der *mittlere Gesamtkohlenhydratgehalt* der *Rattenleber* rund $2\frac{1}{2}\%$.

2. *Größere Dosen Adrenalin* oder *Cocain* *verminderten den Leberkohlenhydratwert* um ein *Beträchtliches* (die Hälfte bis ein Sechstel des Normalwertes).

¹ *Burn* u. *Tainter*, l. c.

3. K
welche a
Leber au
Beeinflus
4. I
wertes an
Adrenali
5. I
jedenfall
6. I
vollkom
gehörige
7. A
punkte f

3. *Kombinierte Gaben von kleinen Adrenalin- und Cocaindosen, welche an sich unwirksam waren, setzten den Kohlenhydratgehalt der Leber auf ein Viertel des Normalen herab. Hier trat die gegenseitige Beeinflussung beider Stoffe deutlich zutage.*

4. *Phlorrhizin bewirkte eine Erniedrigung des Leberkohlenhydratwertes auf ein Sechstel der Norm, ebenso in der Kombination mit Adrenalin.*

5. *Die Versuche mit Insulin ergaben kein einheitliches Resultat, jedenfalls lagen die erhaltenen Werte unterhalb der Norm.*

6. *Der Fettgehalt der untersuchten Lebern war sehr schwankend, vollkommen unspezifisch und in keinerlei Beziehung zu dem dazugehörigen Gesamtkohlenhydratwert zu bringen.*

7. *Aus den mitgeteilten Versuchen ergaben sich keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme einer Zuckerbildung aus Fett.*

<i>Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.</i>	Seite
Stott, F. C. Einige vorläufige Versuche über Veränderungen des Blutzuckers bei Dekapoden	55
Ettisch, G. und E. Hellriegel. Eine Methode zur Herstellung von Membranen, Dialysierhülsen usw. aus reiner Cellulose.	65
Ferdmann, D. und O. Feinschmidt. Beiträge zur Biochemie des Winterschlafs. Über die chemischen Bestandteile der Muskeln von winterschlafhaltenden Tieren	67
Feinschmidt, O. und D. Ferdmann. Beiträge zur Biochemie des Winterschlafs. Über die chemischen Bestandteile des Gehirns winterschlafhaltender Tiere	101
— — Beiträge zur Biochemie des Winterschlafs. Über die chemischen Bestandteile des Blutes winterschlafhaltender Tiere	107
Bungenberg de Jong, H. G. und K. C. Winkler. Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. VIII. Mitteilung: Autokomplexkoazervation des Gummi arabicum-Sols bei Gegenwart eines desolvatierenden Nichtelektrolyten	115
Bungenberg de Jong, H. G. und R. F. Westerkamp. Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. IX. Mitteilung: Autokomplexkoazervation des Lecithinsols in rein wässrigem Milieu und bei Gegenwart von gewissen wasserlöslichen Desolvatationsmitteln	131
Elmer, A. Władyslaw. Zur Vereinfachung der Mikrojodbestimmung. .	163
Scheff, Georg. Über den intermediären Stoffwechsel der mit Trypanosomen infizierten Meerschweinchen	168
Scheff, Georg und Emerich Horner. Das Verhalten der Leberlipide bei experimentellen Infektionen	181
Miura, Riichi. Über den Chemismus der Ammoniakkontraktur des Frostmuskels	189
Kapeller-Adler, Regine und Michael Rubinstein. Über die Glykogenbildung in der Leber von Ratten bei reiner Fettfütterung. Ein Beitrag zur Frage der Zuckerbildung aus Fett	196
Neumann, Georg. Über die Kalibrierung der Orientierungsskale von Spektralapparaten.	208
Axmacher, Fr. Das Verhalten von Natriumpyrophosphat bei Gelatinequellung und Diffusion in Gelatine	218
— Über hydrolysierbare Phosphorverbindungen im Speichel und Harn	231
Berichtigung	242

Soeben erschien die vierte, verbesserte Auflage:

Kurzes Lehrbuch der physiologischen Chemie

Von Dr. Paul Hari

o. ö. Professor der physiologischen und pathologischen Chemie an der Universität Budapest
Mit 10 Abbildungen. IX, 407 Seiten. 1932. RM 18.—; gebunden RM 19.60

Die rapiden Fortschritte auf dem Gebiete der physiologischen Chemie bringen es mit sich, daß die Schwierigkeiten bei der Bearbeitung eines Lehrbuches wie des vorliegenden von Auflage zu Auflage ständig wachsen. Die Grenzgebiete verbreitern sich, jüngst erkannte Zusammenhänge machen sich als neue Grenzgebiete geltend, neue Befunde erweisen sich nachträglich als Irrtümer. Es darf wiederum nicht alles Neue abgelehnt werden, weil es dem Althergebrachten widerspricht. Im Gegenteil muß von einem Lehrbuch gefordert werden, daß es den neuesten Forschungen entspricht. Hier muß der Weizen von der Spreu geschieden werden. In diesem Sinne hat der Verfasser die neue Auflage dieses Lehrbuches durchgearbeitet und damit dem Studierenden eine sichere Stütze zur Einführung in diese Disziplin gegeben. Die meisten Kapitel sind mehr oder weniger umgearbeitet worden. Die Beschreibung der Inkrete und Vitamine, der zur Zeit am erfolgreichsten bearbeiteten Gebiete der physiologischen Chemie, ist von Grund auf geändert worden.

Lehrbuch der physiologischen Chemie. Herausgegeben von Olof Hammarsten, ehem. Professor der medizinischen und physiologischen Chemie an der Universität Upsala. Unter Mitwirkung von Prof. S. G. Hedin in Upsala, Prof. J. E. Johansson in Stockholm und Prof. T. Thunberg in Lund. Elfte, völlig umgearbeitete Auflage. Mit einer Spektraltafel. VIII, 836 Seiten. 1926. RM 29.40; geb. RM 32.40*

Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie in 75 Vorlesungen. Für Studierende, Ärzte, Biologen und Chemiker, von Professor Dr. Otto Fürth, Vorstand der Abteilung für physiologische Chemie im Physiologischen Institute der Wiener Universität. Zugleich zweite, völlig neubearbeitete und erweiterte Auflage der „Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie“.

1. Band: **Organchemie.** Vorlesungen 1—40. XX, 583 Seiten.
2. Band: **Stoffwechsellchre.** Vorlesungen 41—75. XI, 615 Seiten.

2 Bände. 1928. RM 90.—; gebunden RM 96.—*

Praktikum der physiologischen Chemie. Von Dr. Peter Rona, Professor an der Universität Berlin.

Erster Teil: **Fermentmethoden.** Von Dr. Peter Rona, Professor an der Universität Berlin. Zweite Auflage. Mit 107 Abbildungen. XI, 420 Seiten. 1931. RM 18.60

Zweiter Teil: **Blut. Harn.** Von Dr. Peter Rona, Professor an der Universität Berlin, und Privatdozent Dr. med. et phil. H. Kleinmann, Berlin. Mit 141 Textabbildungen. XIX, 764 Seiten. 1929. RM 39.60*

Dritter Teil: **Stoffwechsel und Energiewechsel.** Von Dr. H. W. Knipping, Privatdozent an der Medizinischen Klinik der Universität Hamburg, und Dr. Peter Rona, Professor an der Universität Berlin. Mit 107 Textabbildungen. VI, 268 Seiten. 1928. RM 15.—*

*Auf die vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Nachlaß von 10% gewährt.

Verlag von Julius Springer und F. C. W. Vogel in Berlin
und J. F. Bergmann in München

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Berlin, E. Friedmann-Basel, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, F. Verzar-Basel, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 235. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Julie Krael:

Über das Schicksal der mit der Nahrung aufgenommenen Alkylamine und über deren angebliche Entmethylierung im Organismus sowie über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn



Berlin
Verlag von Julius Springer

1931



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19,
zu richten.*

Das Honorar beträgt *M* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

235. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Bleyer, B. und W. Diemair. Zur Kenntnis der pflanzlichen Phosphatide und Lecithine. I. Über ein Phosphatid der Mohrrübe	243
Gorbach, G. und K. Lerch. Über den Einfluß des ultravioletten Lichtes auf die Saccharase. II. Mitteilung: Die Rolle von Tryptophan und Hefegummi	259
Mroczkiewicz, U. Über die tierischen Adeninnucleotide	267
Goigner, Edgar und Wolfgang Pauli. Untersuchungen an elektrolytfreien Proteinen. X. Mitteilung: Elektrochemisch-konstitutive Kennzeichnung von Proteinen mittels der Ag-Aktivität ihrer Silbersalze	271
Weinstein, Paul. Über eigentümliche Schwankungen des Brechungsindex des Hundebulterums	303
Braunstein, A. E., A. N. Parschin und O. D. Chalisowa. Über den Einfluß der sogen. „sauen“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. I. Mitteilung: Oxydation und Paarung von Phenol und Benzol	311
Epstein, I. S. und A. E. Braunstein. Über den Einfluß der sogen. „sauen“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. II. Mitteilung: Oxydation von Toluol	328

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über das Schicksal der mit der Nahrung aufgenommenen Alkylamine und über deren angebliche Entmethylierung im Organismus sowie über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn.

Von

Regine Kapeller-Adler und Julie Kracl.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. März 1931.)

I.

Die Alkylamine, insbesondere das Mono-, Di- und Trimethylamin haben als wesentliche Vertreter der biogenen Amine frühzeitig in biochemischer und pharmakologischer Hinsicht Interesse erweckt. Konnten sie doch leicht allenthalben, wo tierisches Material einer bakteriellen Umwandlung anheimfiel, unter den flüchtigen Stoffwechselprodukten schon infolge ihres charakteristischen Geruchs nachgewiesen werden.

Unter diesen Alkylaminen erscheint das Trimethylamin als Baustein weit verbreiteter physiologischer Substanzen, wie der Betaine, des Cholins, des Lecithins und anderer Phosphatide am besten studiert¹. Ein biogener Zusammenhang des Trimethylamins mit den erwähnten Substanzen ergibt sich aus der häufig beobachteten Bildung von Trimethylamin bei der Aufarbeitung von organischem Material und wurde übrigens durch Versuche von *Ackermann* und *Schütze*² und *Ehrlich* und *Lange*³ eindeutig erwiesen.

Über das biochemische Verhalten des *Trimethylamins* finden sich in der Literatur zahlreiche Angaben. Man nimmt an, daß das Trimethylamin im Organismus unter dem Einfluß oxydativer Vorgänge desamidiert wird. In welcher Art jedoch das Trimethylamin bei diesem Prozeß verändert wird und ob hierbei eine *stufenweise Entmethylierung* unter intermediärer Bildung von Di- bzw. Monomethylamin erfolgt, darüber existiert bisher nur eine einzige Angabe⁴.

¹ Jahresber. d. Tierchem. **39**, 1221, 1909; **41**, 921, 1911; Biochem. Zentralbl. **12**, 794.

² Zentralbl. f. Physiol. **24**, 210, 1910.

³ Zeitschr. d. Vereinig. deutsch. Zuckerindustrie 1914, S. 158.

⁴ *Langley*, Journ. of biol. Chem. **84**, 561, 1929.

Es ist seit langem bekannt, daß *Seetiere* zum Unterschied von Süßwassertieren über einen reichlichen Gehalt an Trimethylamin verfügen und daß davon der penetrante, auffällige Geruch der Seefische herrührt. Dieses Trimethylamin dürfte seine Entstehung in erster Linie dem *Trimethylaminoxyd*, welche Substanz unter den Seeorganismen weit verbreitet ist, verdanken¹. *Suwa*² gelang es nachzuweisen, daß das Trimethylaminoxyd unter dem Einfluß von Bakterien zu Trimethylamin reduziert werden könne.

In einer der vorhergehenden Mitteilungen³ haben wir die Ergebnisse unserer quantitativen Untersuchungen einiger Seefische festgelegt. Wir konnten zeigen, daß der Seefischmuskel neben reichlichen Mengen von *Ammoniak*, *Trimethylamin* und *Trimethylaminoxyd* auch über nicht unbeträchtliche Mengen von *Monomethylamin* verfügt. Es soll hier daran erinnert werden, daß diese Seefischmuskeln nicht in lebensfrischem Zustande untersucht werden konnten, sondern daß ein gleichartiges Material, wie es hierzulande in den Seefischhandlungen zum Verkauf gelangt, zur Untersuchung verwendet wurde.

Da der *Seefisch* ein billiges und ziemlich beliebtes Nahrungsmittel darstellt, legten wir uns die Frage vor, wie sich der *Organismus* bei Seefischnahrung zur großen Menge der im Seefischmuskel vorhandenen freien Basen verhält und nach welcher Richtung er diese *verändert*.

II.

Zur Beleuchtung dieser Frage sollten an einem *Hunde Fütterungsversuche* mit *Kabeljaumuskel* durchgeführt werden.

Bevor jedoch die Fütterungsversuche in Angriff genommen wurden, untersuchten wir den *normalen Harn* des Hundes im Hinblick auf einen etwaigen Gehalt an flüchtigen Basen. Wir bedienten uns hierbei einer sehr schonenden Aufarbeitungsmethode, indem wir den ganz frischen Hundeharn, welcher in einem mit verdünnter Salzsäure beschickten Gefäß aufgefangen worden war, konzentrierten und aus ihm nach *Folin*⁴ die Basen durch einen starken Luftstrom in der Kälte austrieben. Hierbei stellte sich heraus, daß der normale Hundeharn eine recht beträchtliche Menge *Monomethylamin* vorgebildet enthält. Auf diesen Methylamingehalt des normalen Hundeharns kommen wir weiter unten nochmals zurück. Hier sei vorläufig nur der Tatsache des Vorhandenseins von Methylamin im normalen frischen Harn gedacht.

¹ Vgl. *Grollmann*, Journ. of biol. Chem. **81**, 267, 1929; *Hoppe-Seyler* u. *Schmidt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 1, 1927; *Kapeller-Adler* u. *Krael*, diese Zeitschr. **224**, 364, 1930; *F. A. Hoppe-Seyler* u. *W. Linneweh*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **196**, 47, 1931; Zeitschr. f. Biol. **90**, 433, 1930.

² *Pflügers Arch.* **128**, 421, 1909; **129**, 231, 1909.

³ Diese Zeitschr. **224**, 364, 1930.

⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 161, 1902/03.

Die Fütterungsversuche mit Kabeljaumuskeln wurden nun so vorgenommen, daß dem Hunde eine bestimmte Menge zerkleinerten Kabeljaumuskels (etwa 250 g) in die gewöhnliche Nahrung hineingemischt wurde. Der Hund verzehrte restlos die ihm so dargebrachte Kost. Er wurde daraufhin in einen Stoffwechsellkäfig gesperrt und der Harn von 2 Tagen in einem mit verdünnter Salzsäure versehenen Gefäß gesammelt. Der Harn wurde sodann konzentriert, auf ein bestimmtes Volumen gebracht und in aliquoten Teilen desselben der Gehalt an flüchtigen Basen bestimmt. Wir bedienen uns dabei derselben Methode, wie wir sie in unseren früheren Arbeiten¹ beschrieben haben. Die in der Kälte nach *Folin* abgetriebenen Basen wurden in verdünnter Salzsäure aufgefangen und das Gemenge der erhaltenen Chlorhydrate nach erfolgter Reinigung durch abermaliges Destillieren mit Lauge mittels *Chloroform* zerlegt. Im chloroformlöslichen Anteil wurde *Trimethylaminchlorhydrat*, dagegen *kein* Dimethylaminchlorhydrat gefunden, die chloroformunlösliche Fraktion erwies sich als ein Gemenge von Salmiak und *Monomethylaminchlorhydrat*. Der Gehalt an letzterem wurde mittels Methylimidanalyse ermittelt.

Die Ergebnisse der Fütterungsversuche haben wir in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle.

Normalharn des Hundes. Tagesharn enthält in Grammen: Gesamt-N = 6,35, NH₃ = 0,5685, CH₃ · NH₂ = 0,0298, (CH₃)₃N = 0.

Versuch 1.

Verfüttert wurden 215 g Kabeljaumuskeln enthaltend in g*	Nach der Fütterung enthält in g		
	48-Stunden-Harn	Tagesharn	Zerstört
NH ₃ = 0,0826	NH ₃ = 0,7880	NH ₃ = 0,3940	
CH ₃ NH ₂ = 0,0999	CH ₃ NH ₂ = 0,0621	CH ₃ NH ₂ = 0,0310	
(CH ₃) ₃ N = 0,3470	(CH ₃) ₃ N = 0,0445	(CH ₃) ₃ N = 0,0222	(CH ₃) ₃ N = 87,17%

Versuch 2.

Verfüttert wurden 234 g Kabeljaumuskeln enthaltend in g	Nach der Fütterung enthält in g		
	48-Stunden-Harn	Tagesharn	Zerstört
NH ₃ = 0,0899	Gesamt-N = 10,61 NH ₃ = 2,1106	Gesamt-N = 5,30 NH ₃ = 1,0553	
CH ₃ NH ₂ = 0,1088	CH ₃ NH ₂ = 0,0362	CH ₃ NH ₂ = 0,0181	
(CH ₃) ₃ N = 0,3777	(CH ₃) ₃ N = 0,0546	(CH ₃) ₃ N = 0,0273	(CH ₃) ₃ N = 85,54%

¹ Diese Zeitschr. 221, 437, 1930; 224, 364, 1930.

* Vgl. Kapeller-Adler u. Krael, diese Zeitschr. 221, 460, 1930.

Versuch 3.

Verfüttert wurden 270 g Kabeljaumuskeln enthaltend in g	Nach der Fütterung enthält in g		
	48-Stunden-Harn	Tagesharn	Zerstört
	Gesamt-N = 11,61	Gesamt-N = 5,80	
$\text{NH}_3 = 0,1037$	$\text{NH}_3 = 1,0830$	$\text{NH}_3 = 0,5415$	
$\text{CH}_3\text{NH}_2 = 0,1256$	$\text{CH}_3\text{NH}_2 = 0,0651$	$\text{CH}_3\text{NH}_2 = 0,0325$	
$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 0,4358$	$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 0,0556$	$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 0,0278$	$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 87,24\%$

Vergleicht man die Ergebnisse der drei Fütterungsversuche unter Berücksichtigung der Werte für den normalen Hundeharn miteinander, so lassen sich folgende Schlüsse ziehen: Das mit dem Kabeljaumuskeln zugeführte Trimethylamin wird im Hundekörper bis auf einen Bruchteil von etwa 13 bis 14% abgebaut. Betrachtet man die Monomethylaminwerte des Hundeharns *vor* und *nach* den Fütterungsversuchen, so zeigt sich trotz der Zufuhr von Methylamin mit dem Kabeljaumuskeln fast gar kein Ansteigen der ausgeschiedenen Mengen, in dem einen Falle (Versuch 2) bleibt sogar der entsprechende Wert etwas hinter der Norm zurück. Es scheint also sämtliches mit der *Nahrung zugeführtes Methylamin im Organismus vollkommen abgebaut* zu werden. Aus diesen niederen, gegenüber der Norm fast unveränderten Monomethylaminwerten geht weiter hervor, daß das *Trimethylamin im Organismus jedenfalls nicht zu Methylamin entmethyliert* wird.

Über die Ammoniakwerte läßt sich nichts bemerkenswertes aussagen, da sie auffallend schwanken.

III.

Weiter wurde am selben Hunde ein Fütterungsversuch mit *Trimethylaminchlorhydrat* durchgeführt. 2 g Trimethylaminchlorhydrat wurden in die gewöhnliche Nahrung hineingemengt, der Hund in den Stoffwechsellkäfig gebracht und der Tagesharn in einem mit verdünnter Salzsäure beschickten Gefäß aufgefangen.

Wir erhielten folgende Ergebnisse:

Tagesharn enthält in Gramm:

Normalharn	Nach Verfütterung von 2 g Trimethylaminchlorhydrat [= 1,2356 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$]	Zerstört
Gesamt-N = 6,35	Gesamt-N = 5,59	
$\text{NH}_3 = 0,5685$	$\text{NH}_3 = 0,2631$	
$\text{CH}_3\text{NH}_2 = 0,0298$	$\text{CH}_3\text{NH}_2 = 0,0178$	
$(\text{CH}_3)_3\text{N} = \theta$	$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 0,1563$	$(\text{CH}_3)_3\text{N} = 87,35\%$

Aus diesem Versuch geht hervor, daß auch das in Substanz dem Hundeorganismus zugeführte Trimethylamin zu 87% abgebaut wird,

ohne daß Di- oder Monomethylamin als Zwischenprodukte auftreten. Das Ergebnis dieses Versuchs deckt sich vollkommen mit den Resultaten der Fütterungsversuche mit Kabeljaumuskel. Das Monomethylamin erscheint keineswegs vermehrt, im Gegenteil, es ist gegenüber der Norm etwas vermindert. Der Ammoniakwert ist vollkommen unspezifisch.

*Langley*¹ hat Kaninchen Trimethylaminchlorhydrat unter Einhaltung bestimmter Bedingungen verfüttert und dabei gefunden, daß letzteres im Kaninchenorganismus zu 80 bis 96% abgebaut wird. Neben einem Bruchteil unverändert ausgeschiedenen Trimethylaminchlorhydrats glaubte *Langley* noch Spuren Dimethylaminchlorhydrat nachgewiesen zu haben. Dagegen fand er kein Monomethylamin. *Langley* betont ebenfalls, daß die Ammoniakausscheidung eine sehr schwankende ist. Die von *Langley* bezüglich des Abbaues von Trimethylamin im Kaninchenorganismus angeführten Zahlen (80 bis 96%) stimmen gut mit unseren Beobachtungen überein. Auch die übrigen Feststellungen *Langleys*, die vermeintliche Entmethylierung des Trimethylamins im Tierkörper betreffend, decken sich vollkommen mit den unserigen. Es wird also das dem Tierkörper einverleibte Trimethylaminchlorhydrat zerstört, ohne daß faßbare Zwischenstufen erscheinen.

IV.

Was nun das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn anlangt, so müssen wir folgendes hinzufügen: Wir haben uns nicht auf die Prüfung des Hundeharns allein beschränkt, sondern wir haben auch normalen Katzenharn und normalen Menschenharn nach dieser Richtung hin untersucht.

Für den normalen Katzenharn ergeben sich folgende Werte:

Der Tagesharn enthält in Grammen:

Gesamt-N	= 1,84
NH ₃	= 0,2027
CH ₃ NH ₂	= 0,0128
(CH ₃) ₃ N	= 0.

Der *Methylamingehalt* des normalen Katzenharns ist somit erheblich tiefer als derjenige des normalen Hundeharns. (Der Tagesharn des Hundes enthält 0,0298 g Methylamin.)

Schließlich seien noch die Ergebnisse der Untersuchung des normalen Menschenharns erwähnt.

Der Tagesharn enthält in Grammen:

NH ₃	= 0,9456
CH ₃ NH ₂	= 0,0824.

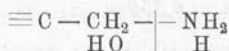
Bei der Durchsicht der Literatur bezüglich eines Vorkommens von Monomethylamin im Menschenharn stießen wir auf eine Arbeit von *Folin*², in welcher der Autor angibt, Monomethylamin im Harn

¹ l. c.

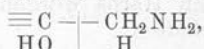
² Journ. of biol. Chem. 3, 83, 1907.

qualitativ nachgewiesen zu haben. Zum Nachweis des Methylamins bediente sich *Folin* hierbei der Isonitrilreaktion.

Nach *Folin* soll bei der hydrolytischen Spaltung und Desamidierung von Eiweißkörpern neben dem normalen Desamidierungsvorgang



bei welchem Ammoniak entsteht, ein Prozeß nach der Richtung



welcher zur Bildung von Methylamin Anlaß gibt, erfolgen.

Weiter behauptet *Folin*, daß bei der Verbrennungsmethode nach *Kjeldahl* weniger die oxydierende Kraft der Schwefelsäure als die *hydrolysierende* in Aktion tritt und daß deshalb bei der Verbrennung von Eiweißabbauprodukten nach *Kjeldahl* neben Ammoniak auch geringe Mengen von Alkylamin entstehen. *Folin* bedauert es nur lebhaft, eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Alkylamin neben Ammoniak zu vermissen.

Die Frage nach dem Ursprung des im normalen Harn enthaltenen Methylamins bedarf dringend einer Aufklärung.

Auf die Beleuchtung dieser Frage gerichtete Versuche sind bereits im Gange.

Analytische Belege.

I. Untersuchung von normalem Hundeharn.

Die Tagesmenge frischen, normalen Hundeharns wurde in einem mit verdünnter Salzsäure beschickten Gefäß aufgefangen und bis auf ein Volumen von 50 ccm eingengt. Aliquote Teile dieser stark eingengten Lösung wurden einerseits einer Gesamtstickstoffbestimmung, andererseits einer Durchlüftung nach *Folin* in der Kälte unterworfen. Die übergehenden Basen wurden in doppeltnormaler Salzsäure aufgefangen, das Destillat zur Trockne gebracht und die so erhaltene Substanz durch neuerliche Destillation mit Natronlauge gereinigt. Die erhaltenen Chlorhydrate wurden nun qualitativ untersucht. Da in Chloroform nichts hineinging, war weder Tri- noch Dimethylaminchlorhydrat vorhanden. Der chloroformunlösliche Anteil enthielt neben viel Salmiak auch Methylaminchlorhydrat, welches sich mittels Chloranil nach *Tsalapatani*¹ nachweisen ließ. Diese Reaktion ist allerdings derartig unempfindlich, daß sie nur in größeren Mengen des Gemenges gelingt.

Zur quantitativen Trennung des Chlorammons von Methylaminchlorhydrat wurden Methylimidbestimmungen² ausgeführt und aus den erhaltenen Werten der Methylamingehalt ermittelt.

¹ Bull. soc. de Steinte di Bucuresci 16, 67, 1907.

² Vgl. diese Zeitschr. 221, 445, 1930.

Gesamtstickstoffbestimmung.

1. 1 ccm des konzentrierten Harns wurde kjeldahlisiert. 90,63 ccm n/10 Säure wurden verbraucht. *Gesamt-N in der Tagesmenge = 6,345 g.*

2. 1 ccm wurde kjeldahlisiert; 90,73 ccm n/10 Säure verbraucht. *Gesamt-N in der Tagesmenge = 6,350 g.*

Bestimmung der flüchtigen Basen.

20 ccm des konzentrierten Harns wurden in der Kälte nach *Folin* durchlüftet. Es wurden erhalten:

$$0,7415 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 1,8537 \text{ g in der Tagesmenge.}$$

Methylimidanalysen.

1. 24,801 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat lieferten 2,739 mg AgJ.

2. 17,661 mg desselben Gemenges lieferten 2,337 mg AgJ. Daraus berechnen sich als Mittelwerte 0,0648 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0297 g CH_3NH_2 und 0,0134 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ für die Tagesmenge.

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r} 1,8537 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ in der Tagesmenge} \\ - 0,0648 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\ \hline 1,7889 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \end{array}$$

Demnach sind 0,5685 g NH_3 und 0,4682 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in der Tagesmenge vorhanden.

II. Hundefütterung mit Kabeljaumuskel.

1. *Versuch.* 215 g Kabeljaumuskel wurden durch die Fleischhackmaschine getrieben und mit der gewöhnlichen Nahrung so vermengt, daß eine ziemlich homogene Masse resultierte. Der Hund verzehrte restlos diese Mahlzeit. Hierauf wurde er in den Stoffwechsellkäfig gesperrt und der 48-Stundenharn in einem mit verdünnter Salzsäure versehenen Gefäß gesammelt. Der Harn wurde auf ein Volumen von 100 ccm gebracht.

50 ccm des konzentrierten Harns (die Hälfte) wurden nach *Folin* in der Kälte von den flüchtigen Basen befreit, die erhaltenen Chlorhydrate gereinigt und zur Wägung gebracht. Das Gemenge der Chlorhydrate wurde mittels Chloroform zerlegt. Der chloroformlösliche Anteil bestand aus Trimethylaminchlorhydrat, der chloroformunlösliche aus einem Gemenge von Salmiak und Methylaminchlorhydrat. Es wurden erhalten:

$$1,3439 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 2,6878 \text{ g im Gesamtharn,}$$

0,0360 g $(\text{CH}_3)_3\text{NHCl}$, d. s. 0,0720 g im Gesamtharn, demnach 0,0445 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ im Gesamtharn.

Ferner wurden erhalten:

$$1,3075 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 2,6150 \text{ g im Gesamtharn.}$$

Methylimidanalysen.

1. 27,837 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus der Hälfte des konzentrierten Harns lieferten 5,314 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,1438 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ und 0,0660 g CH_3NH_2 für den Gesamtharn.

2. 27,978 mg desselben Gemenges ergaben 4,705 mg AgJ. Daraus folgen 0,1266 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ und 0,0582 g CH_3NH_2 für den Gesamtharn.

Mittelwerte.

Der 48-Stundenharn enthält 0,1352 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ und 0,0621 g CH_3NH_2 .

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r} 2,6150 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ im Gesamtharn} \\ - 0,1352 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\ \hline 2,4798 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \end{array}$$

Daraus ergeben sich 0,7880 g NH_3 im Gesamtharn.

2. Versuch. 234 g Kabeljaumuskeln wurden verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde vollkommen analog dem ersten Versuch verarbeitet. Die Hälfte des konzentrierten Harns wurde nach Folin durchlüftet. Es wurden erhalten:

$$3,4182 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 6,8364 \text{ g im Gesamtharn}$$

$$0,0442 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \text{ d. s. } 0,0884 \text{ g } \text{,,} \quad \text{,,}$$

daraus errechnen sich 0,0546 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ und 0,0129 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ für den Gesamtharn.

Ferner resultierten:

$$3,3604 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 6,7208 \text{ g im Gesamtharn.}$$

Methylimidanalysen.

1. 26,922 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus der Hälfte des konzentrierten Harns lieferten 1,115 mg AgJ. Daraus folgen 0,0801 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0368 g CH_3NH_2 und 0,0166 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ für den Gesamtharn.

2. 28,170 mg desselben Gemenges lieferten 1,125 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0773 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0355 g CH_3NH_2 und 0,0160 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Mittelwerte.

Der 48-Stundenharn enthält 0,0787 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0362 g CH_3NH_2 und 0,0163 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r}
 6,7208 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ im Gesamtharn} \\
 - 0,0787 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\
 \hline
 6,6421 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \quad \text{,,} \quad \text{,,}
 \end{array}$$

d. s. 2,1106 g NH_3 und 1,7381 g $\text{NH}_3\text{-N}$ im Gesamtharn.

Gesamt-N-Bestimmung.

1. 1 ccm des konzentrierten Harns wurde kjeldahlisiert; 74,3 ccm n/10 Säure wurden verbraucht. *Gesamt-N des 48-Stundenharns = 10,40 g.*

2. 1 ccm des konzentrierten Harns; 7,73 ccm n/10 Säure. *Gesamt-N = 10,82 g.*

Mittelwert.

Gesamt-N = 10,61 g.

3. *Versuch.* 270 g Kabeljaumuskeln wurden verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

1. 0,5 ccm des konzentrierten Harns wurden kjeldahlisiert. 41,24 ccm n/10 Säure verbraucht. *Gesamt-N = 11,54 g.*

2. 0,5 ccm Harn; 41,73 ccm n/10 Säure. *Gesamt-N = 11,68 g.*

Mittelwert.

Gesamt-N des 48-Stundenharns beträgt 11,61 g.

Bestimmung der flüchtigen Basen.

40 ccm des konzentrierten Harns wurden nach *Folin* durchlüftet. Es wurden erhalten:

$$1,4568 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \text{ d. s. } 3,6420 \text{ g im Gesamtharn} \\ (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \end{array} \right.$$

$$0,0360 \text{ g } (\text{CH}_3)_3\text{NHCl}, \text{ d. s. } 0,0900 \text{ g } \text{,,} \quad \text{,,}$$

demnach 0,0556 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ und 0,0132 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ im Gesamtharn.

Ferner resultierten:

$$1,4208 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \text{ d. s. } 3,5500 \text{ g.} \end{array} \right.$$

Methylimidanalysen.

1. 27,943 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 40 ccm des konzentrierten Harns lieferten 4,081 mg AgJ. Dies entspricht 0,1493 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in der Gesamtmenge Harn.

2. 29,842 mg desselben Gemenges lieferten 3,925 mg AgJ. Daraus folgen 0,1344 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$.

Mittelwerte.

Der 48-Stundenharn enthält 0,1418 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0651 g CH_3NH_2 und 0,0294 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakgehaltsbestimmung.

3,5500 g	{	NH_4Cl	im Gesamtharn
		$\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$	
- 0,1418 g		$\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$,, ,,
3,4082 g		NH_4Cl	,, ,,

Daraus ergeben sich 1,0830 g NH_3 und 0,8918 g NH_3 -Stickstoff im Gesamtharn.

III. Hundefütterung mit Trimethylaminchlorhydrat.

2 g Trimethylaminchlorhydrat entsprechend 1,2356 g Trimethylamin wurden dem Hunde so verfüttert, daß das Salz in die gewöhnliche Nahrung hineingemengt wurde. Der 24-Stundenharn wurde in verdünnter Salzsäure aufgefangen und auf ein Volumen von 100 ccm gebracht.

Gesamt-N-Bestimmung.

1. 1 ccm des konzentrierten Harns wurde kjeldahlisiert; 39,68 ccm n/10 Säure verbraucht. Gesamt-N = 5,55 g.

2. 1 ccm Harn; 40,20 ccm n/10 Säure. Gesamt-N = 5,63 g.

Mittelwert.

Der Tagesharn enthält 5,59 g Gesamt-N.

Bestimmung der flüchtigen Basen.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden nach *Folin* durchlüftet. Es wurden erhalten:

0,5598 g	{	NH_4Cl ,	d. s. 1,1196 g in der Tagesmenge
		$\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$,	
		$(\text{CH}_3)_3\text{NHCl}$,	
0,1265 g		$(\text{CH}_3)_3\text{NHCl}$,	d. s. 0,2530 g ,, ,, ,,

Daraus folgen 0,1563 g $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ und 0,0371 g $(\text{CH}_3)_3\text{N-N}$ in der Tagesmenge. Ferner wurden erhalten:

0,4333 g	{	NH_4Cl ,	d. s. 0,8666 g in der Tagesmenge.
		$\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$,	

Methylimidanalysen.

1. 18,664 g des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus der Hälfte des konzentrierten Harns lieferten 3,063 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0409 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ im Gesamtharn.

2. 26,368 mg desselben Gemenges ergaben 3,780 mg AgJ. Daraus folgen 0,0358 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$.

Mittelwerte.

Der Tagesharn enthält 0,0388 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0178 g CH_3NH_2 und 0,0081 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r}
 0,8666 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ in der Tagesmenge} \\
 - 0,0388 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\
 \hline
 0,8278 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \quad \text{,,}
 \end{array}$$

Dies entspricht 0,2631 g NH_3 und 0,2166 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in der Tagesmenge.

IV. Untersuchung des normalen Katzenharns.

Der Tagesharn wurde in verdünnter Salzsäure aufgefangen und auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

1. 0,5 ccm des konzentrierten Harns wurden kjeldahlisiert; 6,52 ccm n/10 Säure verbraucht. *Gesamt-N* = 1,83 g.

2. 0,5 ccm wurden kjeldahlisiert; 6,77 ccm n/10 Säure verbraucht. *Gesamt-N* = 1,89 g.

3. 0,5 ccm Harn; 6,46 ccm n/10 Säure; *Gesamt-N* = 1,81 g.

Mittelwert.

Gesamt-N = 1,84 g im Tagesharn.

Bestimmung der flüchtigen Basen.

40 ccm des konzentrierten Harns wurden nach *Folin* durchlüftet. Es resultierten:

$$0,2664 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 0,6660 \text{ g in der Tagesmenge.}$$

Methylimidanalysen.

1. 28,458 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat aus 40 ccm des konzentrierten Harns ergaben 4,227 mg AgJ.

Daraus berechnen sich 0,0285 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ für den Tagesharn.

2. 40,084 mg desselben Gemenges lieferten 5,692 mg AgJ. Daraus folgen 0,0272 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in der Tagesmenge.

Mittelwerte.

Der Tagesharn enthält 0,0279 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0128 g CH_3NH_2 und 0,0058 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r}
 0,6660 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ im Tagesharn} \\
 - 0,0279 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \quad \text{,,} \quad \text{,,} \\
 \hline
 0,6381 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \quad \text{,,} \quad \text{,,}
 \end{array}$$

Dies entspricht 0,2027 g NH_3 und 0,1670 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in der Tagesmenge.

V. Untersuchungen des normalen Menschenharns.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm bei salzsaurer Reaktion eingeeengt.

Bestimmung der flüchtigen Basen.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden in der Kälte nach *Folin* durchlüftet. Es wurden erhalten:

$$1,5779 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl}, \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}, \end{array} \right. \text{ d. s. } 3,1558 \text{ g im Tagesharn.}$$

Methylimidanalyse.

1. 32,637 mg des Gemenges von Chlorammon und Methylaminchlorhydrat lieferten 6,316 mg AgJ. Daraus folgen 0,1758 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in der Tagesmenge.

2. 28,947 mg desselben Gemenges ergaben 5,843 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,1843 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$ in der Tagesmenge.

Mittelwerte.

Die Tagesmenge enthält 0,1796 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl}$, 0,0824 g CH_3NH_2 und 0,0372 g $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$.

Salmiakgehaltsbestimmung.

$$\begin{array}{r} 3,1558 \text{ g } \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right. \text{ in der Tagesmenge} \\ \text{-- } 0,1796 \text{ g } \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \text{ " " " } \\ \hline 2,9762 \text{ g } \text{NH}_4\text{Cl} \text{ " " " } \end{array}$$

Dies entspricht 0,9456 g NH_3 und 0,7788 g $\text{NH}_3\text{-N}$ in der Tagesmenge.

Zusammenfassung.

1. Es wurden an einem Hunde *Fütterungsversuche* mit *Kabeljaumuskeln* vorgenommen und die *Ausscheidung flüchtiger Basen* im Harn quantitativ verfolgt.

Das mit dem Kabeljaumuskeln dem Hundeorganismus zugeführte *Trimethylamin* wird zu 86 bis 87% abgebaut. Es erfolgt hierbei *keine stufenweise Entmethylierung*, denn Dimethylamin konnte nicht nachgewiesen werden, und das ausgeschiedene Monomethylamin weicht nicht von der Norm ab.

2. Ein *Fütterungsversuch* mit *Trimethylaminchlorhydrat* am gleichen Hunde führte zum selben Ergebnis. Es wurde zu 87% abgebaut, ohne daß Dimethylamin oder vermehrte Mengen Monomethylamin ausgeschieden wurden.

Dieses Ergebnis stimmt vollkommen mit den von *Langley* in dieser Richtung an Kaninchen gemachten Beobachtungen überein.

3. Auch das mit dem *Kabeljaumuskeln* verfütterte *Monomethylamin* wird im tierischen Organismus zerstört.

4. *Normale Harn* von *Hund*, *Katze* und *Mensch* wurden untersucht, und es konnte hierbei festgestellt werden, daß *Monomethylamin* auch in ganz frischen Harnen vorhanden ist.

Quantitative Untersuchungen ergaben folgende Mengenverhältnisse:

Der Tagesharn eines <i>Hundes</i>	enthielt	0,0298 g	CH_3NH_2
„ „ einer <i>Katze</i>	„	0,0128 g	CH_3NH_2
„ „ eines <i>Menschen</i>	„	0,0824 g	CH_3NH_2

5. Versuche, welche auf die Klärung der Frage nach dem Ursprung des im normalen Harn ausgeschiedenen Monomethylamins gerichtet sind, wurden in Angriff genommen.

Für die Beistellung der für die Tierversuche benötigten Stoffwechsellkäufe sind wir der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft zu großem Dank verpflichtet.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

	Seite
Braunstein, A. E. und A. N. Parsehin. Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. III. Mitteilung: Säurebasenhaushalt, vegetatives Nervensystem und die Oxydation und Paarung von Phenol	334
— Über den Einfluß der sogen. „sauren“ und „basischen“ Nahrung auf das Schicksal aromatischer Substanzen im Organismus. IV. Mitteilung: Einfluß der Diurese auf das Schicksal von Phenol im Organismus	344
Täufel, K. und G. Gamperl. Über die Sterine der Gerste und ihrer Mälzungsprodukte	353
Hjorth-Hansen, Sverre. Zur Relation zwischen Bodenreaktion und chemischer Zusammensetzung des Hafers (<i>Avena sativa</i>). Orientierende Untersuchungen mit Goldregenhafer	359
Scharrer, K. und W. Schropp. Über die Wirkung der Saponine bei der Schweinemast	367
Kapeller-Adler, Regine. Über das Verhalten verschiedener organischer Stickstoffverbindungen in der Kalischmelze und über einen Apparat zur Bestimmung dabei auftretender flüchtiger Basen	375
Kapeller-Adler, Regine und E. Stern. Über die Fraktionierungsversuche von Basengemischen, insbesondere von Fleischextraktbasen mit Permutit	390
Kapeller-Adler, Regine und Julie Kracl. Über das Schicksal der mit der Nahrung aufgenommenen Alkylamine und über deren angebliche Entmethylierung im Organismus sowie über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn	394
Schroeder, H. und F. Herrmann. Über die Kohlenhydrate und den Kohlenhydratstoffwechsel der Laubblätter. I. Mitteilung: Die Zunahme des Saccharosegehaltes beim Welken	407
Mutzenbecher, P. v. Untersuchung der bei Serumelektrodialyse auftretenden Eiweißfraktionen mit der Ultrazentrifuge	425
Kuroya, Masahiko. Bildung und Umwandlung von Methylglyoxal durch Fermente der Tuberkel- und der Timothee-bazillen	438
— Bildung von Methylglyoxal durch das wasserlösliche Ferment des Rattensarkoms	444
— Nachweis und quantitative Bestimmung der Lactose im Harn	447
Scheffer, Josef. Über die Verteilung des Cholesterins zwischen Blutkörperchen und Plasma unter dem Einfluß der Blutgase	451
Schiff, F. und G. Weiler. Fermente und Blutgruppen. I.	454
Sternberg, W. F. Über den Chlorgehalt des Blutes denervierter Gewebe	466
Cosack, Gert. Aktivierung und Stabilisierung von Pankreasdiastase durch Hämatin	469
Lutwak, C. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. X. Mitteilung: Über die Ammoniakbildung, welche den Zuckungen jodessigsäurevergifteter Muskel entspricht	485
Virtanen, Artturi I. Zur Spezifität der α -Glucosidasen. Bemerkung zu der Mitteilung von R. Weidenhagen	490
Autorenregister	492

Soeben erschienen:

Nieren und ableitende Harnwege

Bearbeitet von

Prof. Dr. **F. Volhard**

Frankfurt a. M.

Prof. Dr. **F. Suter**

Basel

(„Handbuch der inneren Medizin“, zweite Auflage, herausgegeben von G. v. Bergmann, Berlin, und R. Staehelin, Basel, Band VI)

- I. Teil. Mit 93 zum Teil farb. Abbildungen. XIII, 1023 Seiten. 1931
Gebunden RM 98.—
- II. Teil. Mit 205 zum Teil farb. Abbildungen. III, 1113 Seiten. 1931
Gebunden RM 99.60

Beide Teile werden nur zusammen abgegeben

Inhaltsübersicht: Die **doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen**. Von Prof. Dr. F. Volhard, Frankfurt a. M. Physiologie der Nierenfunktion. Pathologische Physiologie der Nierenfunktion. Die Wassersucht. Die Veränderungen am Herzen und am Gefäßapparat. Die Urämie. Die Albuminurie. Geschichte und Einteilung der hämatogenen Nierenerkrankungen. Die Nephrosen, die primären Parenchym- und Mesenchymdegenerationen. Die diffuse Glomerulonephritis. Die infektiösen Herd-Nephritiden. Die Sklerosen. — **Die ein- und beidseitig auftretenden Nierenerkrankungen** (sogenannte chirurgische Nierenaffektionen). Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Allgemeiner Teil. Spezieller Teil. — **Erkrankungen der Blase, der Prostata, der Hoden und Nebenhoden, der Samenblasen. Funktionelle Sexualstörungen**. Von Prof. Dr. F. Suter, Basel. Erkrankungen der Harnblase. Erkrankungen der Prostata. Erkrankungen der Hoden, Nebenhoden, Samenblasen. Die funktionellen Störungen der männlichen Sexualorgane. — Literatur. — Namen- und Sachverzeichnis.

Vorlesungen über funktionelle Pathologie und Therapie der Nierenerkrankheiten.

Von Dr. Baron Alexander v. Korányi, o. ö. Professor, Direktor der III. Medizinischen Klinik der K. Ung. Pázmán Peter Universität der Wissenschaften in Budapest. Mit 37 Abbildungen. VIII, 330 Seiten. 1929.

RM 24.—; gebunden RM 26.80

Lehrbuch der Urologie und der chirurgischen Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane.

Von Prof. Dr. Hans Wildbolz, Chirurgischer Chefarzt am Inselspital in Bern. (Aus: „Enzyklopädie der klinischen Medizin“, Spezieller Teil.) Mit 183 zum großen Teil farbigen Textabbildungen. VIII, 546 Seiten. 1924.

RM 36.—; gebunden RM 38.40

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedmann-Moskau, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Stockholm, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Char-kow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianisch-nikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidel-berg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzar-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 248. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Kuni Toda:

Über das Vorkommen von Monomethylamin im Harn



Berlin

Verlag von Julius Springer

1932



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber

Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19, zu richten.

Das Honorar beträgt *M* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

248. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Negelein, Erwin. Kryptohämין	243
Teorell, Torsten. Eine neue Methode zur titrimetrischen Bestimmung kleinster Mengen Ammoniak	246
Remesow, Igor. Physikalisch-chemische Untersuchungen über den kolloidalen Zustand von Cholesterin, Cholesterin-ester und Lecithin. VII. Mitteilung: Über Tautomerie des Cholesterins	256
Fuziwara, Kanzi. Bedeutung der Gallensäure im Kohlenhydratstoffwechsel. XVI. Mitteilung: Glykogenbildung im Muskel durch Gallensäure und innersekretorische Hormone	264
Nicolaysen, Ragnar. Schwankungen des Blutkalkspiegels beim fastenden Menschen.	275
— Zur Bestimmung der einzelnen fixen Basen, besonders des Magnesiums, im Harn.	278

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über das Vorkommen von Monomethylamin im Harn.

Von

Regine Kapeller-Adler und Kuni Toda.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 24. März 1932.)

In einer der vorhergehenden Mitteilungen¹ konnten wir über das Vorkommen von Monomethylamin im normalen Harn von Menschen, Hunden und Katzen berichten und die diesbezüglichen Mengenverhältnisse festlegen. Die Frage nach dem Ursprung des im Harn auftretenden Methylamins hat eine Fülle von Gesichtspunkten eröffnet und bildete den Ausgangspunkt vorliegender Untersuchungen.

I.

Zur Beleuchtung dieser Frage erschien es zuerst von Bedeutung, festzustellen, ob die Bildungsgröße des Methylamins im Harn von der Natur der zugeführten Nahrung abhängig sei. Zu diesem Zwecke wurde folgende Versuchsreihe an einem Hunde ausgeführt:

Zunächst wurde dem Tier 2 Tage lang gewöhnliche gemischte Kost verabreicht, an den folgenden 2 Tagen wurde der Hund vollkommen fleischlos gefüttert, an weiteren 2 Tagen bekam er eine sehr fleichreiche Kost, um an den letzten 2 Versuchstagen wieder normal (gemischte Kost) ernährt zu werden. Die jeweilige zweitägige Harnmenge des Hundes, welcher sich

Tabelle I.

Hund.

	Tagesharn enthält in g	
	Gesamt-N	Methylamin
Gemischte Kost	6,0887 } 6,0435 }	6,0661 } 0,0352 } 0,0372 } 0,0362
Fleischfreie Kost	2,7596 } 2,7896 }	2,7746 } 0,0149 } 0,0118 } 0,0133
Fleischreiche Kost	4,0601 } 4,0743 }	4,0672 } 0,0562 } 0,0676 } 0,0619
Gemischte Kost	3,5046 } 3,4944 }	3,4995 } 0,0371 } 0,0338 } 0,0354

¹ Kapeller-Adler u. Krael, diese Zeitschr. 235, 398, 1931.

in einem Stoffwechsellkäfig befand, wurde in einem mit verdünnter Salzsäure versehenen Gefäß gesammelt und auf einen Gehalt an Methylamin geprüft. Bezüglich der Methodik sei erwähnt, daß wir uns im Rahmen vorliegender Arbeit durchgehend derselben Arbeitsweise bedienen, wie wir sie in unseren früheren Arbeiten¹ beschrieben haben. Wir kommen im experimentellen Teil auf dieselbe noch kurz zu sprechen.

Dieser Versuch lieferte die in Tabelle I wiedergegebenen Ergebnisse.

Bei gemischter Kost betrug der Methylamingehalt des Hundeharns etwa 36 mg pro Tagesmenge (Normalwert). Bei fleischfreier Ernährung sank dieser Wert auf 13 mg, bei fleischreicher Kost hingegen erfuhr er eine Steigerung fast auf das Doppelte (62 mg in der Tagesmenge).

Aus dieser Tabelle geht nun hervor, daß das im Harn auftretende Methylamin teils *endogenen*, teils *exogenen* Ursprungs ist, und daß *reichliche Fleischnahrung eine beträchtliche Steigerung der Methylaminausscheidung* zur Folge hat. Es müssen also im Fleisch ein oder mehrere Stoffe enthalten sein, welche für das Auftreten des Methylamins im Harn maßgebend sind.

Unter diesem Gesichtspunkt wurden nun weitere Fütterungsversuche an demselben Hunde unternommen, und zwar wurden für die

Tabelle II.
Hund.

Verfütterte Substanz	Tagesharn enthält in g			
	Gesamt-N	Methylamin		
Gemischte Kost ohne Zusatz	7,2161 7,1842	7,2001	0,0321 0,0232	0,0276
Gemischte Kost und 2 g Methylaminchlorhydrat	4,2470 4,2470		0,0523 0,0553	0,0538
Gemischte Kost und 1 g Glykokoll	2,4220 2,4178	2,4199	0,0299 0,0274	0,0286
Gemischte Kost und 1 g Kreatin	8,0178 8,0326	8,0252	0,0889 0,0806	0,0847
Gemischte Kost und 1 g Kreatin	7,7950 7,9000	7,8475	0,1063 0,1120	0,1096
Gemischte Kost und 1 g Kreatin	10,0808 10,0952	10,0880	0,1734 0,1727	0,1730
Gemischte Kost und 1 g Kreatinin	4,5682 4,5192	4,5437	0,1208 0,1079	0,1143
Gemischte Kost und 0,5 g Arginin-carbonat	2,2666 2,1994	2,2330	0,0256 0,0264	0,0260
Gemischte Kost und 1 g Betainchlorhydrat	9,9197 10,1122	10,0159	0,1271 0,1339	0,1305
Fleischfreie Kost und 3 g Betainchlorhydrat	3,2816 3,2816		0,0902 0,1013	0,0957

¹ Diese Zeitschr. 221, 437, 1930; 224, 364, 1930; 235, 394, 1931.

Verfütterung vor allem biologisch wichtige Stoffe, welche entweder eine Methylamingruppe in ihrem Molekül präformiert enthielten oder zur Bildung derselben Veranlassung geben konnten, in Betracht gezogen. Als solche wurden *Kreatin*, *Kreatinin*, *Glykokoll*, *Betain* und *Arginin* gewählt. Diese Versuche wurden so ausgeführt, daß dem Hunde die erwähnten Substanzen in fester Form durch Hineinmengen in die gewöhnliche gemischte Kost verabreicht wurden.

Wir erhielten hierbei die in Tabelle II wiedergegebenen Resultate.

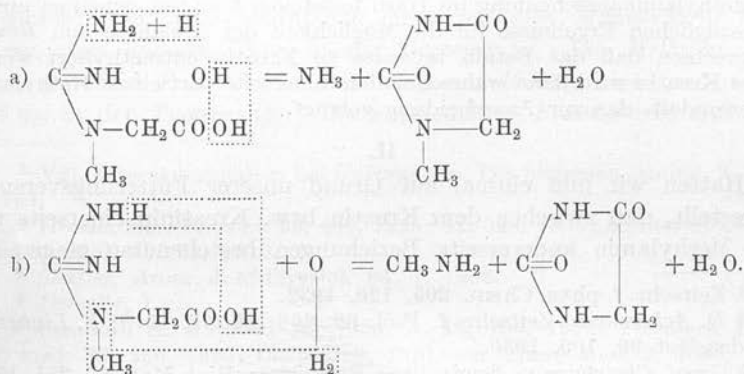
Die Verfütterung von 2 g *Methylaminchlorhydrat* entsprechend 0,9185 g *Methylamin* hatte wohl eine Erhöhung des ausgeschiedenen Methylamins auf fast das Doppelte zur Folge, diese Mehrausscheidung steht jedoch in keinem Verhältnis zur Menge des verfütterten Methylamins. Offenbar wird peroral zugeführtes Methylamin im Stoffwechsel zerstört, worauf wir schon einmal hinzuweisen Gelegenheit hatten¹.

Die Darreichung von *Glykokoll* übte auf die Ausscheidung von Methylamin keinerlei Einfluß aus. Bei diesem Versuch wurde ein Normalwert (28 mg in der Tagesmenge) erhalten.

Dagegen stieg der *Methylamingehalt des Harns* nach Verabreichung von *Kreatin* und *Kreatinin* auf das *Drei- bis Sechsfache der Norm* an.

Dieses Ergebnis erschien uns von um so größerem Interesse, als wir doch auf Grund theoretischer Überlegungen und im Einklang mit dem bei der Verfütterung von viel Fleisch im Hunderversuch erhaltenen Resultat (Tabelle I) geneigt waren anzunehmen, daß das im Muskel vorhandene Kreatin vor allem als Methylaminbildner in Betracht käme. Das Methylamin könnte leicht durch Desaminierung aus dem Kreatin hervorgehen.

Der biologische Abbau des Kreatins könnte nach folgenden zwei Richtungen vor sich gehen:



¹ Diese Zeitschr. 235, 397, 1931.

Durch einen hydrolytischen Prozeß würden entsprechend dem ersten Reaktionsschema aus dem Kreatin Methylhydantoin und Ammoniak entstehen. Für diese Art biologischer Reaktionen hat vor kurzem *F. Linneweh*¹ den Namen Guanidodesimidase-reaktion vorgeschlagen. Übrigens geht Kreatinin durch Saprophyteneinwirkung tatsächlich in Methylhydantoin über². Nach der zweiten Reaktionsgleichung würden aus dem Kreatin Hydantoin und Methylamin hervorgehen (Arginasereaktion).

Bei der Verfütterung von *Arginin* erhielten wir trotz gegenteiliger Erwartungen einen Normalwert. Das Arginin übte also keinen Einfluß auf die Bildungsgröße des Methylamins aus. Übrigens soll peroral verabfolgtes Arginin, obwohl es vielfach für einen Kreatinbildner gehalten wird, auch keine Kreatinbildung nach sich ziehen³.

Auffallend waren die bei der Verfütterung von *Betain* erzielten Ergebnisse. Die Darreichung von 1 g Betainchlorhydrat bei gemischter Kost hatte eine Ausscheidung von 130 mg in der Tagesmenge (mehr als das Vierfache der Norm) zur Folge. Bei der Zufuhr von 3 g Betainchlorhydrat bei fleischfreier Ernährung wurde ein Methylaminwert von 96 mg in der Tagesmenge (das Dreifache der Norm) beobachtet. Wenn also auch die Ausscheidungsgröße des Methylamins der verfütterten Menge Betains nicht parallel zu gehen scheint, so verursacht das Betain doch eine starke Erhöhung des Methylamingehalts gegenüber der Norm.

An dieser Stelle soll auf eine eigenartige Hypothese von *Riesser*⁴ hingewiesen werden. Der Autor stellt sich, gestützt auf die Beobachtung, daß das Cholin im Organismus einer Entmethylierung anheimfalle, vor, daß auch das Betain partiell entmethyliert werde und in Kreatin bzw. Kreatinin übergehe. Die zur Stütze dieser Annahme von ihm angestellten Tierexperimente sprechen in der Tat für das Bestehen derartiger Beziehungen.

Da wir nun nach Verfütterung von Betain eine deutliche Vermehrung der Methylaminausscheidung im Harn feststellen konnten, scheinen unsere diesbezüglichen Ergebnisse für die Möglichkeit der Annahme von *Riesser* zu sprechen, daß das Betain teilweise zu Kreatin entmethyliert werde. Dieses Kreatin wird dann wahrscheinlich seinerseits partiell zu Methylamin umgewandelt, das zur Ausscheidung gelangt.

II.

Hatten wir nun einmal auf Grund unserer Fütterungsversuche festgestellt, daß zwischen dem Kreatin bzw. Kreatinin einerseits und dem Methylamin andererseits Beziehungen bestehen, so gingen wir

¹ Zeitschr. f. phys. Chem. 205, 126, 1932.

² *D. Ackermann*, Zeitschr. f. Biol. 62, 208; 63, 78, 1913; *F. Linneweh*, ebendasselbst 90, 109, 1930.

³ *Grant, Christman* u. *Lewis*, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 27, 231, 1929; *Hyde* u. *Rose*, J. of biol. Chem. 84, 535, 1929.

⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 86, 415, 1913.

an das Studium der Frage heran, wie es sich mit der *Methylaminausscheidung* in Fällen, sei es *physiologischer*, sei es *pathologischer Kreatinurie* verhalte.

Kreatin kommt normalerweise im Harn nicht vor. Dennoch wird die *Kreatinurie* bei *Kindern bis zum 15. Lebensjahre* als *physiologisch* aufgefaßt¹. Ferner wurde eine Kreatinausscheidung im Harn *gravider Frauen*² und im Harn von *Frauen post partum*³ beobachtet. Kreatinurie zeigt sich weiter bei den verschiedenartigsten *Störungen der Kohlenhydratverbrennungen* und bei vielen Krankheiten, welche mit einem *intensiven Zerfall der Körperzellen* einhergehen, so z. B. bei akutem Fieber⁴. Schließlich sei noch erwähnt, daß wiederholt auf einen Zusammenhang zwischen der Ausscheidungsgröße des *Kreatins* und der *Intensität des Stoffwechsels*⁵ in den Zellen, namentlich des Muskelgewebes hingewiesen worden ist. In der jüngsten Zeit konnte *Loevy*⁶ bei der Untersuchung des Harns von Skiläufern feststellen, daß nach einem Wettkampf das Kreatinin-N vermehrt erscheint. *Kácl*⁷, welcher den Einfluß der Muskelarbeit auf den Kreatin- und Kreatinin-gehalt im Blute normaler Menschen studiert hat, kommt auch zum Ergebnis, daß Muskelanstrengung die Kreatin- und Kreatininwerte im Blute beeinflusst, und zwar soll bei sporttreibenden Personen dieser Einfluß kleiner sein als bei den übrigen.

Im Zusammenhang mit diesen Literaturangaben bezüglich einer unter normalen oder pathologischen Verhältnissen beobachteten Kreatinurie haben wir *Kinderharn*, weiter *normale und pathologische Harn* von *Männern und Frauen* in den Kreis unserer Untersuchung einbezogen.

Wir müssen vorausschicken, daß die Ergebnisse der Untersuchung von Kinderharn nicht verwertet werden konnten, da Tagesmengen nicht zu erhalten waren. Wir haben deswegen auf die Aufnahme der diesbezüglichen Zahlen in die nachfolgende Tabelle verzichtet.

Bei der Untersuchung der übrigen Harn gelangten wir zu den in Tabelle III wiedergegebenen Resultaten.

Überblickt man dieses Zahlenmaterial, so kommt man zu folgendem Ergebnis: Der *Methylamingehalt* eines *normalen Männerharns* betrug 82 mg, eines *anderen* 78 mg in der *Tagesmenge*. Der *Methylaminwert* eines *normalen Frauenharns* belief sich auf 109 mg, eines *anderen* auf 146 mg in der *Tagesmenge*. Die untersuchten *Frauenharn* enthielten

¹ Vgl. Literaturangaben bei *Guggenheim*, Die biogenen Amine, 2. Aufl., S. 164.

² *Honda*, Ber. Physiol. 20, 464, 1923; 32, 598, 1925; *Krause* u. *Cramer*, J. of Physiol. 40, 61, 1910.

³ *Shaffer*, Amer. J. of Physiol. 23, 1, 1908.

⁴ *Derselbe*, l. c.

⁵ *Campbell* u. *Webster*, Biochem. J. 16, 106, 1922; *Palmieri*, Policl. sez. med. 32, 356, 1925; *Carpentier*, Bull. soc. Chim. Biol. 9, 1085, 1927; *Hodgson* u. *Lewis*, Amer. J. of Physiol. 87, 288, 1928.

⁶ *Loevy*, Ronas Ber. 62, 573, 1931.

⁷ Diese Zeitschr. 245, 452, 1932.

Tabelle III.

	Tagesmenge in g	
	Gesamt-N	Methylamin
Harn von Männern.		
Normal		0,0807 } 0,0846 } 0,0826
Normal	8,5120 } 8,5680 } 8,5400	0,0781 } 0,0787 } 0,0784
Diabetiker	5,3986 } 5,3687 } 5,3836	0,1392 } 0,1498 } 0,1445
Diabetiker	5,5656 } 5,5656 } 5,5656	0,1192 } 0,1058 } 0,1125
Diabetiker	2,8980 } 2,8980 } 2,8980	0,1225 } 0,1336 } 0,1280
Nach körperlicher Anstrengung	9,6796 } 9,6796 } 9,6796	0,1897 } 0,2004 } 0,1950
Indikanreicher Harn	7,4424 } 7,4340 } 7,4382	0,1367 } 0,1364 } 0,1365
Harn von Frauen.		
Normal	9,7140 } 9,7140 } 9,7140	0,1444 } 0,1475 } 0,1459
Normal	9,2058 } 9,2058 } 9,2058	0,1032 } 0,1152 } 0,1092
Diabetiker	5,3986 } 5,3986 } 5,3986	0,0952 } 0,1009 } 0,0981
Fieber	7,0266 } 7,0579 } 7,0422	0,0811 } 0,0821 } 0,0816
Schwangerenarn	11,1854 } 11,1854 } 11,1854	0,2345 } 0,2394 } 0,2369
Schwangerenarn	11,6953 } 11,7256 } 11,7104	0,2627 } 0,2432 } 0,2529
Wöchnerinnenarn	10,6718 } 10,7013 } 10,6865	0,3070 } 0,3104 } 0,3087

also mehr Methylamin als die Männerharn. Im Hinblick auf diese Feststellung sei einer Arbeit von Langlin und Blunt¹ gedacht, in welcher die Autoren von einer Kreatinausscheidung im Tagharn von Frauen berichten. Die von uns in normalen Frauenharnen gegenüber normalen Männerharnen gefundene vermehrte Methylaminausscheidung steht möglicherweise in Zusammenhang mit der von den obenerwähnten Autoren gemachten Beobachtung.

Die Untersuchung eines weiblichen Diabetesharns ergab einen Normalwert, während diejenige vom Harn eines männlichen Diabetikers stark erhöhte Methylaminwerte lieferte.

¹ J. of biol. Chem. 58, 285, 1924.

Auf den aus der Literatur her bekannten Zusammenhang zwischen Kohlenhydratstoffwechsel und Kreatinurie wurde bereits oben hingewiesen. Das Erscheinen des Kreatins im Harn wird vielfach als Indikator für gestörten oder fehlenden Kohlenhydratumsatz aufgefaßt. Demgegenüber behauptet *Wolf*¹, daß Störungen im Kohlenhydratstoffwechsel allein nicht genügen, um Kreatin im Harn auftreten zu lassen, daß vielmehr noch andere Prozesse hierbei eine Rolle spielen müssen.

In diesem Lichte glauben wir auch die aus unseren Untersuchungen resultierende Beobachtung, daß ein weiblicher Diabetikerharn keine stärkere Methylaminausscheidung, der Harn eines männlichen Diabetikers eine nicht unerhebliche Vermehrung gegenüber der Norm aufwies, beurteilen zu müssen.

Der von uns untersuchte *weibliche Fieberharn* zeigte auffallenderweise einen viel *tieferen Methylaminwert*, als er der Norm entspricht. Wir haben hier ebenfalls entsprechend den obenerwähnten, die Kreatinurie betreffenden Literaturangaben einen in bezug auf die Norm erhöhten Wert erwartet. Allerdings behauptet *Meyer*², daß weder Kachexie noch Fieber als solches eine Kreatinausscheidung bewirken, wohl aber gewisse Arten der Infektion.

Bei der Untersuchung eines *männlichen Harns nach körperlicher Anstrengung* (Harn eines Skiläufers nach anstrengender Tour) konnten wir eine *Erhöhung der Methylaminausscheidung* auf das $2\frac{1}{2}$ fache der Norm feststellen. In diesem Falle war ein Zusammenhang zwischen Kreatinurie und erhöhter Methylaminausscheidung deutlich ersichtlich.

Ein solcher Zusammenhang ergab sich auch einwandfrei bei der Verarbeitung der Harne von *zwei graviden Frauen* und *einer Wöchnerin*. Die *Graviden-Harne* wiesen eine *Erhöhung des Methylamingehalts* auf das *Doppelte*, der *Wöchnerinnenharn* eine solche auf das $2\frac{1}{2}$ fache der Norm auf.

Schließlich sei noch das Ergebnis der Untersuchung eines sehr *indikanreichen männlichen Harns* erwähnt, welche Untersuchung wir im Hinblick auf die Frage bezüglich der Beeinflußbarkeit der Methylaminausscheidung durch bestehende Darmfäulnis unternahmen. Der erhaltene *Methylaminwert* war etwa um das $1\frac{1}{2}$ fache gegenüber dem *Normalwert gesteigert*. Bei bestehender Indikanurie dürfte das Methylamin seine Entstehung zum Teil der bakteriellen Zersetzung von Eiweißabbauprodukten verdanken.

Es ist bekannt³, daß *toxische Phosphorgaben* eine *starke Erhöhung des Kreatingehalts der Muskeln* herbeiführen, wobei gleichzeitig Kreatin

¹ J. of biol. Chem. 10, 473, 1911.

² Deutsch. Arch. f. klin. Med. 134, 219, 1921.

³ *Palladin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 136, 45, 1923; 179, 9, 1928.

und größere Mengen Kreatinin im Harn erscheinen. Durch kleinere Phosphordosen soll keine entsprechende Wirkung ausgelöst werden.

Wir haben hinsichtlich dieser Feststellung einem Hunde, dessen normalen Methylaminausscheidungswert wir zunächst bestimmt hatten, einige Tage hindurch bei gewöhnlicher gemischter Kost 0,5 mg *Phosphor in Öl gelöst* pro Tag und Kilogramm Körpergewicht *subcutan* verabreicht und den Harn in bezug auf seinen Methylamingehalt untersucht. Die hierbei erhaltenen Werte geben wir im folgenden wieder:

Tabelle IV.

Hund.

	Tagesmenge enthält in g			
	Gesamt-N	Methylamin		
Normalharn	11,7482 11,7009	11,7245	0,0325 0,0289	0,0307
36-Stundenversuch	16,7160 16,8266	16,7713	0,0477 0,0540	0,0508
48-Stundenversuch	9,5440 9,5860	9,5650	0,0443 0,0459	0,0451
70-Stundenversuch	6,7370 6,7570	6,7470	0,0524 0,0570	0,0547

Der normale Methylamingehalt im Harn dieses Hundes betrug 31 mg in der Tagesmenge. Nach täglicher Gabe von 0,5 mg Phosphor pro Kilogramm Körpergewicht wurde eine relativ schwache Erhöhung der Methylaminausscheidung beobachtet. Diese Phosphorgabe hatte also auf die Bildungsgröße des Methylamins im Harn keinen sonderlich großen Einfluß.

Bei Betrachtung sämtlicher im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Gesamtstickstoffwerte und der dazugehörigen Methylaminzahlen ergibt es sich, daß nirgends ein Abhängigkeitsverhältnis des Methylamins vom Gesamtstickstoff festzustellen ist.

Überblicken wir nun die Ergebnisse des gesamten Untersuchungsmaterials, so gelangen wir zur Annahme, daß im großen und ganzen zwischen dem Kreatinstoffwechsel und dem Auftreten des Methylamins im Harn nahe Beziehungen zu bestehen scheinen, und zwar dürfte das Methylamin ein Umwandlungsprodukt des Kreatins darstellen.

Hierbei sei einer Arbeit von Benedikt und Osterberg¹ Erwähnung getan, in welcher die Verfasser mit Rücksicht auf ihre Kreatinfütterungsversuche an Hunden ihrer Überzeugung Ausdruck geben, daß das Kreatinin nicht das einzige Ausscheidungsprodukt des Kreatins sei.

¹ J. of biol. Chem. 56, 229, 1923.

Den Ergebnissen vorliegender Arbeit zufolge können wir die Angaben genannter Autoren insofern ergänzen, als wir glauben, im Methylamin ein weiteres Abbauprodukt des Kreatins gefunden zu haben.

Analytische Belege.

Nachweis und Bestimmung des Methylamins.

Der Harn wurde jeweils in einem mit verdünnter Salzsäure beschickten Gefäß aufgefangen und auf ein bestimmtes kleines Volumen eingeeengt (meist 100 ccm). Ein aliquoter Teil dieser stark eingeeengten Flüssigkeit wurde einer Durchlüftung nach *Folin*¹ in der Kälte unterworfen. Die übergelassenen Basen wurden in doppelt-normaler Salzsäure aufgefangen, das Destillat zur Trockne gebracht und der Rückstand durch neuerliche Destillation mit Natronlauge gereinigt. Die erhaltenen Chlorhydrate wurden zwecks Entfernung eventuell vorhandenen Trimethylaminchlorhydrats mit Chloroform extrahiert und der chloroformunlösliche Anteil, der ein Gemenge von Salmiak und Methylaminchlorhydrat darstellt, weiter verarbeitet.

Zum qualitativen Nachweis des Methylamins bedienten wir uns der Reaktion nach *Tsalapatani*².

Zur quantitativen Bestimmung des Methylamins wurden Mikromethylimidbestimmungen nach *Pregl*, modifiziert nach *Friedrich*³, in aliquoten Teilen des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat ausgeführt und aus den erhaltenen Werten der Methylamingehalt ermittelt.

Überdies wurde in jedem Harn der Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* mikroanalytisch bestimmt.

I. Fütterungsversuch am Hunde.

1. Normalharn (nach Mischfutter).

Der 48-Stundenharn wird bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm konzentriert.

Gesamtstickstoffbestimmung.

a) 0,5 ccm des konzentrierten Harns wurden kjeldahlisiert; 43,17 ccm n/10 Säure wurden verbraucht. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 6,0435 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 43,49 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 6,0887 g.

Bestimmung des Methylamins.

50 ccm des konzentrierten Harns entsprechend der Tagesmenge wurden nach *Folin* durchlüftet. Es wurden erhalten 1,1467 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ in der Tagesmenge.

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 161, 1902/03.

² Bull. soc. Steinte din Bucaresti **16**, 67, 1907.

³ Vgl. diese Zeitschr. **221**, 445, 1930; Quant. organ. Mikroanal., 3. Aufl., 1930, S. 215.

Methylimidanalysen.

a) 22,375 mg des Gemenges von Salmiak und Methylaminchlorhydrat lieferten 5,200 mg AgJ. Daraus folgen 0,0352 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 21,925 mg desselben Gemenges lieferten 5,390 mg AgJ. Daraus folgen 0,0372 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0362 g CH_3NH_2 .*

2. Hundeharn nach fleischfreier Ernährung.

Der Hund erhielt täglich $1\frac{1}{2}$ Liter Milch, Reis und Gemüse. Der 48-Stundenharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 19,71 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 2,7596 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 19,92 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 2,7896 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn durchlüftet. 0,7588 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 32,627 mg dieses Gemenges lieferten 4,846 mg AgJ. Daraus folgen 0,0149 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 30,370 mg desselben Gemenges lieferten 3,557 mg AgJ. Daraus folgen 0,0118 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Die Tagesmenge enthält 0,0133 g CH_3NH_2 .*

3. Hundeharn nach fleischreicher Kost (1 kg Fleisch pro Tag).

Der 48-Stundenharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 29,00 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge 4,0601 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 29,10 ccm n/10 Säure; Gesamt-N in der Tagesmenge 4,0743 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns durchlüftet. 1,168 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ für die Tagesmenge erhalten.

a) 20,685 mg dieses Gemenges lieferten 7,518 mg AgJ. Daraus folgen 0,0562 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 18,275 mg desselben Gemenges; 8,003 mg AgJ. Daraus folgen 0,0676 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Die Tagesmenge enthält 0,0619 g CH_3NH_2 .*

4. Normalharn desselben Hundes (gemischte Kost).

Der 72-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 37,55 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge: 3,5046 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 37,44 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 3,4944 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns durchlüftet. 1,5935 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden erhalten, daraus folgen 1,0623 g in der Tagesmenge.

a) 24,309 mg dieses Gemenges lieferten 5,861 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,0338 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 22,565 mg desselben Gemenges. 5,974 mg AgJ. Daraus folgen 0,0371 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0354 g CH_3NH_2 .*

II. Fütterungsversuche mit biologisch wichtigen Stoffen an demselben Hunde.

1. Normalharn (gemischte Kost).

Der 24 Stundenharn wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 25,65 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 7,1842 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 25,77 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 7,2161 g.

Methylaminbestimmung.

48,5 ccm des konzentrierten Harns durchlüftet. Es wurden 0,8440 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, entsprechend 1,740 g im Tagesharn.

a) 21,725 mg dieses Gemenges; 3,030 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,0321 g CH_3NH_2 .

b) 21,115 mg desselben Gemenges; 2,125 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,0232 g CH_3NH_2 .

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0276 g CH_3NH_2 .*

2. Verfütterung von Monomethylaminchlorhydrat.

2 g Monomethylaminchlorhydrat, entsprechend 0,9185 g CH_3NH_2 wurden mit dem gewöhnlichen Futter innig vermengt. Der 24-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingeeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm des konzentrierten Harns; 15,16 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge betrug 4,2470 g.

b) 0,5 ccm Harn; 15,16 ccm n/10 Säure. Der Tagesharn enthält 4,2470 g Gesamt-N.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns durchlüftet; es wurden erhalten 0,7545 g $\begin{matrix} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{matrix}$, das sind 1,5090 g in der Tagesmenge.

a) 23,390 mg dieses Gemenges lieferten 6,140 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,0523 g CH_3NH_2 .

b) 23,770 mg desselben Gemenges; 6,590 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,0553 g CH_3NH_2 .

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0538 g CH_3NH_2 .*

3. Verfütterung von Glykokoll.

1 g Glykokoll wurde verfüttert, der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 17,30 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 2,4220 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 17,27 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 2,4178 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns durchlüftet. 0,5908 g $\begin{matrix} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{matrix}$ für die Tagesmenge erhalten.

a) 18,605 mg dieses Gemenges lieferten 7,110 mg AgJ. Daraus folgen 0,0299 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 17,437 mg desselben Gemenges; 6,111 mg AgJ. Daraus folgen 0,0274 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Die Tagesmenge enthält 0,0286 g CH_3NH_2 .*

4. Verfütterung von Kreatin.

1 g Kreatin wurde bei gemischter Kost verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 57,27 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 8,0178 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 57,37 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 8,0326 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. 3,9437 g $\begin{matrix} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{matrix}$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 24,622 mg dieses Gemenges ergaben 4,199 mg AgJ. Daraus folgen 0,0889 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 25,206 mg desselben Gemenges. 3,895 mg AgJ. Daraus folgen 0,0806 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Die Tagesmenge enthält 0,0847 g CH_3NH_2 .*

Parallelversuch.

1 g Kreatin wurde verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 55,71 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 7,7950 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 56,43 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 7,900 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden durchlüftet, 3,9232 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 30,290 mg dieses Gemenges lieferten 6,207 mg AgJ. Daraus folgen 0,1063 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 23,539 mg Substanz. 5,081 mg AgJ. Daraus folgen 0,1120 g CH_3NH_2 .

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 0,1096 g CH_3NH_2 .

Zweiter Parallelversuch.

1 g Kreatin wurde bei Mischkost verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 72,00 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 10,0808 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 72,10 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 10,0952 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden durchlüftet, 4,4165 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 22,595 mg dieses Gemenges lieferten 6,710 mg AgJ. Daraus folgen 0,1734 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,560 mg desselben Gemenges lieferten 6,080 mg AgJ. Daraus folgen 0,1727 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 0,1730 g CH_3NH_2 .

5. Verfütterung von Kreatinin.

1 g Kreatinin wurde bei Mischkost verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 32,63 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 4,5682 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 32,28 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 4,5192 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden durchlüftet. 1,3283 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 22,666 mg dieses Gemenges lieferten 15,595 mg AgJ. Daraus folgen 0,1208 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 16,505 mg desselben Gemenges, 10,140 mg AgJ. Daraus folgen 0,1079 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1143 g CH_3NH_2 .*

6. Verfütterung von Arginincarbonat.

0,5 g Arginincarbonat wurden bei Mischfutter verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 15,71 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 2,1994 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 16,19 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 2,2666 g Gesamt-N.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn, durchlüftet. 0,5832 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ für die Tagesmenge erhalten.

a) 26,446 mg dieses Gemenges lieferten 8,805 mg AgJ. Daraus folgen 0,0256 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 38,840 mg desselben Gemenges. 13,342 mg AgJ. Daraus folgen 0,0264 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0260 g CH_3NH_2 .*

7. Verfütterung von Betainchlorhydrat.

1 g Betainchlorhydrat wurde bei gewöhnlicher Ernährung verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm des konzentrierten Harns. 70,85 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,9197 g.

b) 0,5 ccm des konzentrierten Harns, 72,23 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 10,1122 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden durchlüftet. 4,5388 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ für die Tagesmenge erhalten.

a) 25,524 mg dieses Gemenges lieferten 5,405 mg AgJ. Daraus folgen 0,1271 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 25,525 mg desselben Gemenges. 5,695 mg AgJ. Daraus folgen 0,1339 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1305 g CH_3NH_2 .*

Parallelversuch.

3 g Betainchlorhydrat wurden bei fleischfreier Kost verfüttert. Der 48-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingeeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm des konzentrierten Harns. 23,44 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 3,2816 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 23,44 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 3,2816 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn wurden durchlüftet. $2,0076 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden für die Tagesmenge erhalten.

a) 21,156 mg dieses Gemenges lieferten 7,190 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,0902 g CH_3NH_2 .

b) 22,190 mg desselben Gemenges. 8,474 mg AgJ. Der Tagesharn enthält 0,1013 g CH_3NH_2 .

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0957 g CH_3NH_2 .*

III. Untersuchung von Menschenharnen (Männerharn).

1. Normalharn.

Die Tagesmenge wurde mit verdünnter Salzsäure versetzt und auf 100 ccm eingeeengt.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $1,5779 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden erhalten, das sind 3,1558 g in der Tagesmenge.

a) 32,637 mg dieses Gemenges lieferten 6,316 mg AgJ. Daraus folgen 0,0807 g CH_3NH_2 .

b) 28,947 mg desselben Gemenges. 5,843 mg AgJ. Daraus folgen 0,0846 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0826 g CH_3NH_2 .*

2. Normalharn.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm bei salzsaurer Reaktion eingeeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 30,40 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 8,5120 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 30,60 ccm n/10 Säure. Der Tagesharn enthält 8,5680 g Gesamt-N.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $1,4600 \text{ g} \left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden erhalten, das sind 2,9200 g in der Tagesmenge.

a) 25,082 mg dieses Gemenges lieferten 5,073 mg AgJ. Daraus folgen 0,0781 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 16,449 mg desselben Gemenges, 3,353 mg AgJ. Daraus folgen 0,0787 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0784 g CH_3NH_2 .*

3. Diabetikerharn.

A. *Die Tagesmenge wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingengt.*

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 19,17 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,3687 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 19,28 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,3986 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. 2,3420 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden erhalten, das sind 4,6840 g in der Tagesmenge.

a) 23,115 mg dieses Gemenges lieferten 5,195 mg AgJ. Daraus folgen 0,1392 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,170 mg desselben Gemenges, 4,880 mg AgJ. Daraus folgen 0,1498 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1445 g CH_3NH_2 .*

B. *Die Tagesmenge von demselben Diabetiker wurde auf 100 ccm konzentriert.*

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 19,87 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,5656 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 19,87 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,5656 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. 1,6389 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ wurden erhalten, das sind 3,2778 g in der Tagesmenge.

a) 20,300 mg dieses Gemenges lieferten 5,585 mg AgJ. Daraus folgen 0,1192 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,225 mg desselben Gemenges, 4,935 mg AgJ. Daraus folgen 0,1058 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1125 g CH_3NH_2 .*

C. *Die Tagesmenge von demselben Diabetiker wurde auf 100 ccm eingengt.*

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 10,35 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 2,8980 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 10,35 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 2,8980 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $0,9430 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$
 wurden erhalten, das sind 1,8860 g in der Tagesmenge.

a) 20,075 mg dieses Gemenges. 9,845 mg AgJ. Daraus folgen 0,1225 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,925 mg desselben Gemenges. 11,215 mg AgJ. Daraus folgen 0,1336 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 0,1280 g CH_3NH_2 .

4. Untersuchung eines Harns nach körperlicher Anstrengung.

Die Tagesmenge wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 34,57 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,6796 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 34,57 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,6796 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $2,6518 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$
 wurden erhalten, das sind 5,3036 g in der Tagesmenge.

a) 20,505 mg dieses Gemenges. 5,860 mg AgJ. Daraus ergeben sich 0,2004 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,015 mg desselben Gemenges, 5,410 mg AgJ. Daraus folgen 0,1897 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: Der Tagesharn enthält 0,1950 g CH_3NH_2 .

5. Untersuchung eines indikanreichen Harns.

Die Tagesmenge wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 26,58 ccm n/10 Säure. Gesamt-N der Tagesmenge beträgt 7,4424 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 26,55 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 7,4340 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $2,2956 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$
 wurden erhalten, das sind 4,5912 g in der Tagesmenge.

a) 25,558 mg dieses Gemenges, 5,751 mg AgJ. Daraus folgen 0,1367 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 25,852 mg deselben Gemenges 5,810 mg AgJ. Daraus folgen 0,1364 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.,

Mittelwert: Der Tagesharn enthält 0,1365 g $\text{CH}_3\text{N H}_2$.

Frauenharn.*1. Normalharn.*

Die Tagesmenge wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 34,69 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,714 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 34,69 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,714 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn, durchlüftet. $2,8977 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ wurden erhalten, das sind 5,7954 g in der Tagesmenge.

a) 21,958 mg dieses Gemenges. 4,224 mg Ag J. Daraus folgen 0,1475 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 23,469 mg desselben Gemenges. 4,421 mg Ag J. Daraus ergeben sich 0,1444 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1459 g CH_3NH_2 .*

2. Normalharn.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 32,878 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 9,2058 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 32,878 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 9,2058 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $3,1195 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ wurden erhalten, das sind 6,2390 g für die Tagesmenge.

a) 21,100 mg dieses Gemenges. 2,640 mg Ag J. Daraus folgen 0,1032 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 23,215 mg desselben Gemenges. 3,240 mg Ag J. Daraus folgen 0,1152 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,1092 g CH_3NH_2 .*

3. Diabetikerharn.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 19,28 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,3986 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 19,28 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 5,3986 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn wurden durchlüftet. $1,5625 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ wurden erhalten, das sind 3,1250 g in der Tagesmenge.

a) 21,215 mg dieses Gemenges. 4,890 mg Ag J. Daraus folgen 0,0952 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 20,040 mg desselben Gemenges. 4,895 mg Ag J. Daraus folgen 0,1009 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0981 g CH_3NH_2 .*

4. Fieberharn.

Der Tagesharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 25,09 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 7,0266 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 25,20 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 7,0579 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $1,7346 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ wurden erhalten, das sind 3,4692 g in der Tagesmenge.

a) 24,330 mg dieses Gemenges. 4,305 mg Ag J. Daraus folgen 0,0811 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 23,405 mg desselben Gemenges. 4,190 mg Ag J. Daraus folgen 0,0821 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0816 g CH_3NH_2 .*

5. Schwangerenharn.

Die Tagesmenge wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 39,94 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,1854 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 39,94 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,1854 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. $3,5576 \text{ g} \begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ erhalten, das sind 7,1152 g in der Tagesmenge.

a) 20,685 mg dieses Gemenges, 5,155 mg Ag J. Daraus folgen 0,2345 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 21,790 mg desselben Gemenges. 5,545 mg Ag J. Daraus folgen 0,2394 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,2369 g CH_3NH_2 .*

6. Schwangerenharn.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm eingeeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

- a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 41,769 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,6953 g.
 b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 41,87 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,7256 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. 3,083 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, das sind 6,166 g in der Tagesmenge.

a) 27,627 mg dieses Gemenges. 8,900 mg AgJ. Daraus folgen 0,2627 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 30,131 mg desselben Gemenges. 8,958 mg AgJ. Daraus folgen 0,2432 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,2529 g CH_3NH_2 .*

7. Wöchnerinnenharn.

Die Tagesmenge wurde auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

- a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 38,11 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 10,6718 g.
 b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 38,21 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 10,7013 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet. 4,0765 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, das sind 8,1530 g in der Tagesmenge.

a) 24,002 mg dieses Gemenges; 6,833 mg AgJ. Daraus folgen 0,3070 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 23,559 mg desselben Gemenges; 6,781 mg AgJ. Daraus folgen 0,3104 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,3087 g CH_3NH_2 .*

IV. Untersuchung von Harnen eines phosphorvergifteten Hundes.

1. Normalharn (Mischfutter).

Der 67-Stundenharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm konzentriert.

Gesamt-N-Bestimmung.

- a) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 41,95 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,7482 g.
 b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 41,78 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 11,7009 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet; 1,9450 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, das sind 1,3930 g in der Tagesmenge.

a) 21,605 mg dieses Gemenges lieferten 3,815 mg AgJ. Daraus folgen 0,0325 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 21,975 mg desselben Gemenges. 3,455 mg AgJ. Daraus folgen 0,0289 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

Mittelwert: *Der Tagesharn enthält 0,0307 g CH_3NH_2 .*

2. Untersuchung der Harne nach Phosphorgaben.

A. Der Hund ($15\frac{1}{2}$ kg schwer) erhielt bei Mischfutter täglich 7,57 mg Phosphor, in Öl gelöst (0,5 mg pro Kilogramm Körpergewicht) subcutan. Der 48-Stundenharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 200 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 60,09 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 16,8266 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn. 59,70 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 16,7160 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns wurden durchlüftet. 0,1660 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, das sind 0,3320 g in der Tagesmenge.

a) 22,955 mg dieses Gemenges. 2,495 mg AgJ. Daraus folgen 0,0477 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 21,000 mg desselben Gemenges. 2,585 mg AgJ. Daraus folgen 0,0540 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

Mittelwerte: *Der Tagesharn enthält 0,0508 g CH_3NH_2 .*

B. Der Hund erhielt bei Mischkost täglich 7,5 mg Phosphor, in Öl gelöst, subcutan. Der 36-Stundenharn wurde bei salzsaurer Reaktion auf 100 ccm eingengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 51,39 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,5860 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 51,13 ccm n/10 Säure. Gesamt-N in der Tagesmenge beträgt 9,5440 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm des konzentrierten Harns, durchlüftet; 2,9450 g $\left\{ \begin{array}{l} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{array} \right.$ erhalten, das sind 3,925 g in der Tagesmenge.

a) 21,020 mg dieses Gemenges lieferten 1,795 mg AgJ. Daraus folgen 0,0443 g CH_3NH_2 für die Tagesmenge.

b) 21,010 mg desselben Gemenges lieferten 1,860 mg AgJ. Daraus folgen 0,0459 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 0,0451 g CH_3NH_2 .

C. Der Hund erhielt bei Mischkost täglich 7,5 mg Phosphor, in Öl gelöst, subcutan. Der 70-Stundenharn wurde auf 100 ccm eingeeengt.

Gesamt-N-Bestimmung.

a) 0,5 ccm konzentrierter Harn, 70,17 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 6,737 g.

b) 0,5 ccm konzentrierter Harn; 70,40 ccm n/10 Säure. Gesamt-N im Tagesharn beträgt 6,757 g.

Methylaminbestimmung.

50 ccm konzentrierter Harn, durchlüftet. 4,670 g $\begin{cases} \text{NH}_4\text{Cl} \\ \text{CH}_3\text{NH}_2\text{HCl} \end{cases}$ erhalten, das sind 3,202 g in der Tagesmenge.

a) 21,010 mg dieses Gemenges, 2,605 mg AgJ. Daraus folgen 0,0524 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

b) 22,215 mg desselben Gemenges, 2,990 mg AgJ. Daraus folgen 0,0570 g CH_3NH_2 in der Tagesmenge.

Mittelwert: Der Tagesharn enthält 0,0547 g CH_3NH_2 .

Zusammenfassung.

1. Die zur Frage nach dem Ursprung des im Harn aufgefundenen Methylamins an einem Hunde ausgeführten Fütterungsversuche ergaben, daß das Methylamin teils *endogenen*, teils *exogenen* Faktoren seine Entstehung verdanke. Bei gemischter Kost betrug der Methylamingehalt des Hundeharns rund 30 mg in der Tagesmenge. Bei fleischloser Ernährung sank dieser Wert auf 13 mg, reichliche Fleischkost steigerte ihn auf 62 mg pro Tagesmenge.

2. Die an demselben Hunde mit biologisch wichtigen Stoffen bei Mischkost durchgeführten Fütterungsversuche deuten auf einen *Zusammenhang zwischen dem Kreatinstoffwechsel und der Methylaminausscheidung* hin. Nach Kreatin- bzw. Kreatiningaben stieg die Methylaminausscheidung auf das Drei- bis Sechsfache der Norm an.

3. *Betainzufuhr* verursachte ebenfalls eine *Steigerung der Methylaminausscheidung*, offenbar bedingt durch eine partielle Entmethylierung des Betains.

Verfüttertes *Arginin* übte *keinen Einfluß* auf die *Bildungsgröße des Methylamins im Harn* aus.

Peroral verabreichtes *Methylaminchlorhydrat* wird im Stoffwechsel bis auf ganz geringe Mengen *zerstört*.

4. Normale *männliche Harne* enthielten *weniger Methylamin* als *weibliche*.

Harne mit physiologischer oder pathologischer Kreatinausscheidung wiesen einen gegenüber der Norm erhöhten Methylamingehalt auf, so *Diabetiker-, Graviden-, Wöchnerinnenharne* und *Harne nach körperlicher Anstrengung*. Auch hier tritt deutlich eine Beziehung der Methylamin-ausscheidung zum Kreatinstoffwechsel zutage.

5. Untersuchungen von Harnen eines *phosphorvergifteten Hundes* ergaben nur eine *leichte Vermehrung der Methylaminausscheidung*.

6. Die Methylaminwerte scheinen vollkommen unabhängig von den Gesamtstickstoffwerten zu sein.

7. Auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wird das Methylamin neben Kreatinin als Umwandlungsprodukt des Kreatins im Stoffwechsel aufgefaßt.

Herrn Prof. *H. K. Barrenscheen* sind wir für die Erteilung wertvoller Ratschläge zu großem Danke verpflichtet.

Lippich, Fritz. Die Reaktion zwischen Zucker und Cyankalium in ihren Beziehungen zum Problem der Zuckermifikationen in wässriger Lösung	280
Bungenberg de Jong, H. G. und R. F. Westerkamp. Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. X. Mitteilung: Autokomplexkoazervation von Triolein, Cholesterin oder Ölsäure enthaltenden Lecithinsolen und ihre Bedeutung für die Biologie	309
— — Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. XI. Mitteilung: Die Autokomplexkoazervate des Lecithins und ihre Bedeutung für das Permeabilitätsproblem	335
Bodnár, J. und Lili Eveline Róth. Die Wirkung der Quecksilbersalze auf die Samenkeimung	375
Kanai, Izumi. Über den Einfluß von Aminosäuren auf den Blutzucker	383
Ostern, P. und J. K. Parnas. Über die Auswertung von Adenosinderivaten am überlebenden Froschherz	389
Parnas, J. K. und P. Ostern. Über die Ammoniakbildung im Herzen. III. Mitteilung: Über das Adennucleotid im überlebenden Froschherzen	398
Kapeller-Adler, Regine und Kuni Toda. Über das Vorkommen von Monomethylamin im Harn	403
Rudy, Hermann. Über die chemische Natur des Hirnantigens. I.	426
Ellinger, Friedrich. Über die Absorption des Histidins im Ultraviolett	437
Glimm, E. und I. v. Gizycki. Zur Kenntnis der Biolase	449
Honcamp, F., H. Hilgert und W. Wöhlbier. Über die Verdaulichkeit des Holzzuckers	474
Autorenverzeichnis	483

Verlag von Julius Springer in Berlin

Soeben erschienen:

Das Kasein

Chemie und technische Verwertung

Von **Edwin Sutermeister**

Deutsche Bearbeitung von Dr. **Ernst Brühl**

Chemiker und öffentlich bestellter Wirtschaftsprüfer

Mit 40 Textabbildungen. VIII, 278 Seiten. 1932

Gebunden RM 22.—

Das vorstehende Werk wurde von der amerikanischen chemischen Gesellschaft veröffentlicht und entstand unter Mitarbeit zahlreicher amerikanischer Fachleute. Den seit Erscheinen der amerikanischen Ausgabe auf einzelnen Gebieten gemachten Fortschritten hat der deutsche Bearbeiter Rechnung getragen. Dabei wurden die europäischen und insbesondere die deutschen Verhältnisse in erster Reihe berücksichtigt. Dementsprechend wurden nicht nur die amerikanischen Bezeichnungen, Gewichte usw. umgerechnet, sondern auch die Maschinen in deutschen Ausführungsarten dargestellt. Bei den analytischen Angaben sind die deutschen Methoden, speziell die des RAL, in den Vordergrund gestellt worden.

Angesichts der großen Bedeutung, die die Industrialisierung der Landwirtschaft für Deutschland hat, spielt die Frage der besten Verwertung der Molkeerzeugnisse eine sehr wichtige Rolle. Heute ist die deutsche Produktion an Kasein noch äußerst gering, während ein Drittel der gesamten Weltproduktion in Deutschland verbraucht wird. Da bisher kein anderes einschlägiges Werk vorhanden ist, stellt die vorliegende Ausgabe ein besonders wertvolles Hilfsmittel für den deutschen Interessenten dar.

Die Hydrierung der Fette

Eine chemisch-technologische Studie

Von Dr. **H. Schönfeld**, Berlin

Mit 36 Abbildungen. VI, 152 Seiten. 1932 RM 15.—

Inhaltsübersicht: Vorwort. — Gehärtete und natürliche feste Fette. — Die nichtkatalytischen und halbkatalytischen Ölhärtungsverfahren. — Gewinnung von Nickelkatalysatoren für die katalytische Ölhärtung. — Herstellung von Nickelkatalysatoren durch Reduktion von in Öl suspendierten Nickelverbindungen. — Kobalt-, Kupfer- und Eisenkatalysatoren. — Aus zwei und mehreren Komponenten bestehende Katalysatoren. — Wirkung von „Aktivatoren“. — Negative Katalysatoren und Katalysatorgifte. — Einfluß der Herstellungsart auf die Aktivität der Nickelkatalysatoren. — Edelmetallkatalysatoren. — Die Hydrierungsgeschwindigkeit. — Die technischen Verfahren der Fetthärtung und ihre Apparatur. — Selektive und stufenweise Hydrierung. — Feste Ölsäuren oder „Isoölsäuren“. — Die relative Hydrierungsgeschwindigkeit von freien Fettsäuren und von Fettsäureglyceriden. — Fetthärtung bei hohem Wasserstoffdruck. — Einfluß der Härtung auf den Vitamingehalt und die biologische Aktivität der Fette. — Der „Hartfettgeruch“. — Katalytische Reduktion der Carboxylgruppe. — Namen- und Sachverzeichnis.

Verlag von Julius Springer in Berlin

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig

Printed in Germany

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedmann-Moskau, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Stockholm, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Heidelberg, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Ludwigshafen, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, W. Nernst-Berlin, K. Noack-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Char-kow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianisch-nikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidel-berg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzar-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 252. Band, 1.—3. Heft

Regine Kapeller-Adler:

**Über eine neue Reaktion zur qualitativen und quantitativen
Bestimmung des Phenylalanins**



Berlin

Verlag von Julius Springer

1932



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *ℳ* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19, zu richten.

Das Honorar beträgt *ℳ* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

252. Band

Inhaltsverzeichnis

1.—3. Heft

	Seite
Theorell, A. Hugo T. Kristallinisches Myoglobin. I. Mitteilung: Kristallisieren und Reinigung des Myoglobins sowie vorläufige Mitteilung über sein Molekulargewicht.	1
Oparin, A. und S. Risskina. Über die Aktivität der Amylase in den Blättern der Zuckerrübe	8
Binz, A. und H. Maier-Bode. Über die Harnfähigkeit organischer Halogenverbindungen	16
Erlenmeyer, H. und E. Berger. Untersuchungen über die Bedeutung der Struktur der Antigene für die Entstehung und für die Spezifität der Antikörper	22
Spiegel-Adolf, Mona. Neue Beiträge zur Frage der Eiweißdenaturierung. III. Mitteilung: Adsorption und Elution von Serum-eiweißkörpern mit besonderer Berücksichtigung der Reversibilität der Proteinveränderungen	37

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über eine neue Reaktion zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Phenylalanins.

Von
Regine Kapeller-Adler.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 16. Juni 1932.)

I.

Unter den Eiweißbausteinen gehört das Phenylalanin zu den relativ schwer bestimmbaren Verbindungen. Die von *E. Fischer*¹ angegebene Reaktion des Phenylalanins mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure, welche das Auftreten des charakteristischen Geruchs nach *Phenylacetaldehyd* zur Folge hat, ist wohl sehr empfindlich und für das Phenylalanin beweisend, läßt sich jedoch nicht quantitativ auswerten. Die bisher geübten Bestimmungsmethoden des Phenylalanins in den einzelnen Proteinen gründen sich auf die Isolierung des Phenylalanins aus der hydrolytischen Zersetzungsflüssigkeit der Eiweißstoffe nach der *Estermethode* von *E. Fischer*.

*G. Kollmann*² hat eine Methode zur quantitativen Phenylalaninbestimmung ausgearbeitet, welche auf der Überführung von Phenylalanin in Benzoesäure beruht. Gegenüber der Estermethode bietet dieses Verfahren den Vorteil einer relativ bequemen Ausführbarkeit und eines geringeren Materialaufwandes, ist aber an sich noch ziemlich zeitraubend.

In jüngster Zeit ist eine Methode zur quantitativen Phenylalaninbestimmung von *M. Brazier*³ bekannt geworden, welche auf der *Wasserunlöslichkeit* des *Phenylalaninkupfers* basiert. Das Verfahren ist jedoch ebenfalls sehr umständlich und seinem Wesen nach unscharf.

Bei den erwähnten Bestimmungen handelt es sich vor allem durchweg um *Makromethoden*; eine *Mikromethode*, wie sie der modernen Analyse entspricht, ist bisher für das Phenylalanin nicht beschrieben worden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte nun der Versuch unternommen werden, eine für das Phenylalanin beweisende Reaktion

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 176, 1901.

² Diese Zeitschr. **194**, 1, 1928.

³ Biochem. J. **24**, 1188, 1930.

ausfindig zu machen und diese womöglich zu einer quantitativen Mikrobestimmung auszugestalten. Am aussichtsreichsten in dieser Beziehung erschien uns die Auffindung einer für das Phenylalanin spezifischen *Farbenreaktion*.

Da das Phenylalanin leicht durch Oxydation in *Benzoessäure* übergeht, legten wir uns die Frage vor, ob nicht etwa eine für die letztere Substanz charakteristische Farbenreaktion dem Nachweis des Phenylalanins nutzbar gemacht werden könnte.

*Mohler*¹ hat eine empfindliche Nachweisreaktion für Benzoessäure angegeben, welche darin besteht, daß die Benzoessäure durch Nitrierung und darauffolgende Reduktion mit Schwefelammon eine intensive Rotbraunfärbung liefert. Von *der Heide* und *Jakob*² und *Grossfeld*³ haben die von *Mohler* angegebenen Reaktionsbedingungen modifiziert und hierdurch den Nachweis der Benzoessäure sicherer gestaltet. *Grossfeld* hat diese Reaktion sogar zu einer kolorimetrischen Benzoessäurebestimmung ausgebaut. Den Reaktionsverlauf stellen sich die genannten Autoren so vor, daß die Benzoessäure durch Nitrierung in die symmetrische Dinitrobenzoessäure übergeht, welche ihrerseits durch Reduktion mit Schwefelammon oder mit Hydroxylaminchlorhydrat in Gegenwart von Ammoniak ein Gemenge der rotbraun gefärbten Ammoniumsalze der Amidonitro- und Diamidobenzoessäure liefert. Diese Erklärung der beschriebenen Benzoessäurereaktion hat sehr wenig Wahrscheinlichkeit für sich, weil nicht einzusehen ist, warum die Ammoniumsalze der entstandenen Säuren intensiv rotbraun gefärbt sein sollten. Wir kommen auf die Interpretierung dieser Umsetzung weiter unten noch einmal zu sprechen.

Wir unternahmen nun den Versuch, diese Reaktion direkt auf das Phenylalanin zu übertragen, von der Vorstellung ausgehend, die starke Salpetersäure des Nitriergemisches würde zunächst das Phenylalanin zu Benzoessäure oxydieren, welche Substanz im weiteren Reaktionsverlauf nitriert und, mit Hydroxylamin in Gegenwart von Ammoniak reduziert, eine Rotbraunfärbung liefern würde. Zu unserem größten Erstaunen erhielten wir jedoch bei der Behandlung von Phenylalanin mit Nitriergemisch und darauffolgender vorsichtiger Reduktion in ammoniakalischer Lösung statt der erwarteten Rotbraunfärbung eine *intensive Blauviolett*färbung.

Somit kann bei der Einwirkung starker Salpetersäure auf Phenylalanin keineswegs Benzoessäure, sondern es muß ein anderer Stoff gebildet worden sein.

Bei der Durchsicht der diesbezüglichen Literatur stießen wir auf eine Arbeit von *Mörner*⁴, welche eine Bestätigung unserer Beobachtung betrifft

¹ Bull. soc. Chem. 3, 414, 1890; Zeitschr. f. anal. Chem. 36, 202, 1897.

² Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 19, 141, 1910.

³ Ebenda 30, 271, 1915; 53, 467, 1927.

⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 95, 289, 1915.

der Nitrierung von Phenylalanin enthält. *Mörner* konnte nämlich nachweisen, daß beim Nitrieren des Phenylalanins Benzoesäure als Zwischenprodukt nicht auftritt, sondern es entsteht bei *dieser Umsetzung p-Nitrobenzoesäure*, und zwar auf direktem Wege, keineswegs über Benzoesäure.

Für das Auftreten verschieden gefärbter Endprodukte bei der *Mohlerschen* Benzoesäurereaktion einerseits und der analogen Umsetzung des Phenylalanins andererseits muß also das von Benzoesäure offenbar divergierende Verhalten der p-Nitrobenzoesäure bei der fraglichen Reaktion verantwortlich gemacht werden. Zwecks Erhärtung dieser Behauptung wurde ein reines Präparat käuflicher p-Nitrobenzoesäure, analog wie oben bei Benzoesäure und Phenylalanin beschrieben, verarbeitet. Es resultierte hierbei tatsächlich dieselbe Blauviolettfrärbung wie bei der Umsetzung des Phenylalanins.

Die von uns für das Phenylalanin aufgefundene Farbenreaktion wird somit bedingt durch das *intermediäre Auftreten* von p-Nitrobenzoesäure bei der Einwirkung von starker Salpetersäure auf Phenylalanin und kann auch zum Nachweis von p-Nitrobenzoesäure herangezogen werden.

In diesem Zusammenhang erscheint es nicht uninteressant, zu erwähnen, daß schon *Welter*¹ bei Behandlung von Rindshaaren mit kochender Salpetersäure eine Substanz erhalten hat, die seinen Beschreibungen zufolge p-Nitrobenzoesäure gewesen sein dürfte. *Nencki* und *Sieber*² erwähnen diese Säure zum ersten Male im Zusammenhang mit der Eiweißchemie. Sie erhielten p-Nitrobenzoesäure aus Hämoglobin, Casein und Serumeiweiß durch Einwirkenlassen rauchender Salpetersäure. Diese Reaktion ist dann vollends in Vergessenheit geraten, bis sie *Mörner* wieder ans Tageslicht brachte.

Auf der Suche nach einer neuen Farbenreaktion für das Phenylalanin hat nun der Zufall auch uns diese Substanz in die Hände gespielt.

II.

Welche sind nun die Reaktionsprodukte bei der Umsetzung von Phenylalanin bzw. p-Nitrobenzoesäure mit Nitriergemisch und darauffolgender vorsichtiger Reduktion mit Hydroxylaminchlorhydrat in Gegenwart von Ammoniak?

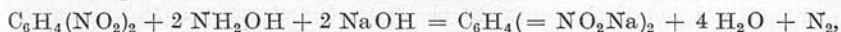
Während des Studiums dieser Frage fielen uns Arbeiten von *Meisenheimer*³ in die Hände, welche uns der Lösung obigen Problems näher brachten. *Meisenheimer* und Mitarbeiter haben gefunden, daß durch vorsichtige Reduktion des o- und p-Dinitrobenzols mit Hydroxylamin in Gegenwart von überschüssigem Alkali tiefgefärbte Lösungen gebildet werden, welche die Reduktionsprodukte der erwähnten Substanzen in Form von Alkali-

¹ Ann. 29, 301, 1799.

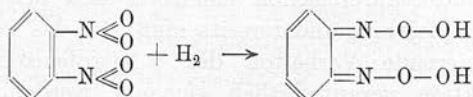
² Arch. f. exper. Pathol. 20, 334, 1886.

³ Ber. 36, 4174, 1904; 39, 2533, 1906; 52, 1161, 1919.

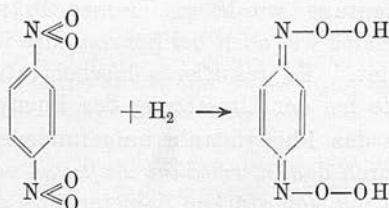
salzen enthalten. Diese Beobachtung erklären die Autoren durch die Annahme folgenden Reaktionsverlaufes:



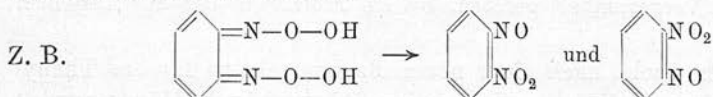
d. h. also, daß primär zwei Wasserstoffatome an die Sauerstoffatome der Nitrogruppen angelagert werden, unter Bildung von *diaci-Dihydrodinitrobenzolen*:



bzw.



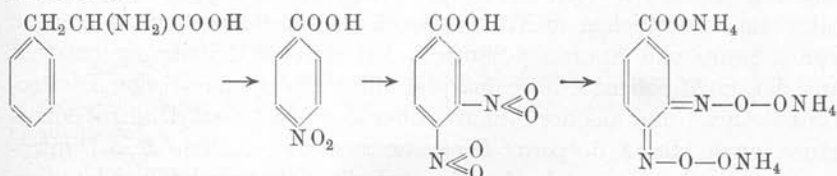
Den Verfassern ist es auch in der Tat gelungen, die Richtigkeit des beschriebenen Reaktionsverlaufes zu beweisen, einmal durch Isolierung der tiefgefärbten Alkalisalze und deren Identifizierung durch Elementaranalyse, weiter durch quantitative Bestimmung des entweichenden Stickstoffs. Letztere Analyse ergab, daß die Reaktion quantitativ in dem geschilderten Sinne verläuft. Als weitere Stütze für diese seine Auffassung diente *Meisenheimer* die Feststellung, daß die intensiv gefärbten Alkalisalze beim Behandeln mit Mineralsäure je zwei isomere *Nitronitrosobenzole* lieferten, welche durch Wasserabspaltung aus den *diaci-Dihydrodinitrobenzolen* entstanden sein müssen:



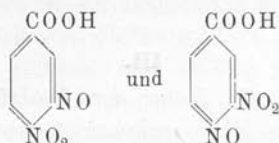
Die hier beschriebenen Reaktionsprodukte aromatischer *o*- und *p*-Nitroverbindungen stehen in naher Beziehung zu den *Chinonen*; man kann sich sie entstanden denken durch Ersatz von Sauerstoff durch die Isonitrogruppe. Bekanntlich sind *o*-chinoide Verbindungen intensiver gefärbt als *p*-chinoide. Damit stehen auch die von *Meisenheimer* isolierten Alkalisalze im Einklang, denn die Alkalisalze der *o*-Verbindungen sind dunkelviolett, diejenigen der *p*-Verbindungen hingegen rotbraun. Das *m*-Dinitrobenzol wird nach *Meisenheimer* unter gleichen Bedingungen wie der *o*- und der *p*-Stoff durch das Hydroxylamin *nicht reduziert*, sondern *substituiert*, wobei keinerlei gefärbte Verbindung entsteht.

Da bei der von uns angegebenen Reaktion des Phenylalanins mit Nitriergemisch und der darauffolgenden Reduktion mit Hydroxylamin eine dunkle blauviolette Färbung entsteht und wir andererseits gefunden haben, daß *p*-Nitrobenzoesäure dasselbe Verhalten zeigt, müssen wir auf Grund der Arbeiten von *Meisenheimer* annehmen, daß bei der Nitrierung sowohl des Phenylalanins als auch der *p*-Nitrobenzoesäure eine *o*-Dinitrobenzoesäure entstehen muß, welche bei vorsichtiger Re-

duktion mit Hydroxylamin in Gegenwart von überschüssigem Ammoniak in das tiefblau gefärbte Ammoniumsalz der *o*-diaci-Dihydrodinitrobenzoesäure übergeht. Der Reaktionsverlauf wäre folgendermaßen zu skizzieren:

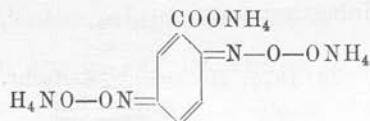


Bei der Nitrierung der *p*-Nitrobenzoesäure muß somit eine weitere Nitrogruppe in *o*-Stellung zur schon vorhandenen getreten sein. Tatsächlich ist es bekannt¹, daß die *p*-Nitrobenzoesäure bei der Nitrierung mit Salpeterschwefelsäure neben 2,4-Dinitrobenzoesäure die 3,4-Dinitrobenzoesäure liefert. Behandelt man die erhaltene tiefgefärbte Lösung mit Salzsäure, so erhält man ebenso, wie es *Meisenheimer* beschrieben hat, eine zitronengelbe Flüssigkeit, die offenbar ein Gemenge zweier isomerer Nitro-Nitrosobenzoesäuren darstellt:



Sämtliche Versuche, eines dieser beiden Isomeren zu fassen, schlugen fehl. Anscheinend erfolgt die Bildung letzterer Substanzen nicht glatt, worauf schon *Meisenheimer* bei der Darstellung der entsprechenden Toluolderivate hinzuweisen Gelegenheit hatte². Wir erhielten bei den diesbezüglichen Versuchen eine harzige Substanz, welche bei der weiteren Behandlung nur sehr spärliche Kristalle lieferte, so daß eine Identifizierung unmöglich war.

Wir möchten nun kurz auf die *Mohlersche* Benzoesäurereaktion zurückgreifen, bei welcher, wie schon vielfach erwähnt, nach Nitrierung und darauffolgender Reduktion in ammoniakalischer Lösung eine rotbraun gefärbte Flüssigkeit resultiert. Auf Grund der Feststellungen von *Meisenheimer* und unserer eigenen nunmehrigen Erfahrungen muß dem Endprodukt der *Mohlerschen* Reaktion folgende Konstitutionsformel zugrunde liegen:



¹ *Claus*, Ber. 13, 815, 1880.

² Ber. 52, 1161, 1919.

Die *rotbraune Flüssigkeit* enthält somit das *Ammoniumsalz* einer *p-diaci-Dihydrodinitrobenzoesäure*.

Eine Stütze für diese Auffassung finden wir in folgenden Literaturangaben: Beim Nitrieren mit Salpeterschwefelsäure ergibt die Benzoesäure im wesentlichen *m-Nitrobenzoesäure* neben erheblichen Mengen von *o-Säure* und Spuren *p-Säure*¹. Bei weiterer Nitrierung entsteht aus der *m-Nitrobenzoesäure* hauptsächlich die symmetrische *Dinitrobenzoesäure*², und aus der *o-Säure* neben der 2, 4-(*meta*-)*Dinitrobenzoesäure* auch die 2, 5-(*para*-)*Dinitrobenzoesäure*³. Diese 2, 5-Dinitrobenzoesäure ist es, welche bei der auf die Nitrierung folgenden vorsichtigen Reduktion mit Hydroxylamin und Ammoniak die Rotbraunfärbung der Reaktionslösung bedingt, weil sie bei dieser Prozedur das Ammoniumsalz einer *p-diaci-Dihydrodinitrobenzoesäure*, welches entsprechend den Feststellungen von *Meisenheimer* rotbraun gefärbt sein muß, liefert. Die bei der erschöpfenden Nitrierung der Benzoesäure neben dieser *p-Dinitrobenzoesäure* entstandenen *m-Dinitrobenzoesäuren* (1, 2, 4- und 1, 3, 5-) reagieren mit Hydroxylamin nicht unter Reduktion, sondern unter Substitution, wobei ungefärbte Produkte entstehen.

III.

Nachdem wir über die *Natur der Reaktionsprodukte* der neuen Phenylalaninreaktion ins Klare gekommen waren, gingen wir daran, die *Reaktionsbedingungen* in Hinblick auf ihre Verwertbarkeit für eine kolorimetrische Bestimmung des Phenylalanins zu untersuchen. Wir mußten uns vor allem davon überzeugen, ob die auftretenden Reaktionsprodukte eine Konstanz in ihrer Färbung aufwiesen. Da bekanntermaßen Nitrierungen von verschiedenen Faktoren abhängig sind, war es möglich, daß die erwarteten Färbungen schwankend und unvergleichbar sein würden.

Nachprüfungen ergaben jedoch, daß unter genauer Einhaltung gleicher Bedingungen die Färbungen mit äußerster Schärfe reproduzierbar waren und sich gut miteinander vergleichen ließen.

Übrigens fand auch *Holdermann*⁴, daß bei Innehaltung der gleichen Arbeitsbedingungen das Verhältnis der Nitrierungsprodukte sehr konstant ist.

Im folgenden bringen wir die Beschreibung der Methode zur quantitativen Phenylalaninbestimmung:

¹ *Griess*, Ber. 8, 526, 1875; *Holleman*, Zeitschr. f. physik. Chem. 31, 79, 1899.

² *Tiemann*, Ber. 3, 224, 1870.

³ *Griess*, Ber. 7, 1225, 1874.

⁴ Ber. 39, 1255, 1908.

Erforderliche Reagenzien:

a) *Nitriergemisch*. 10 g Kaliumnitrat p. a. werden in 100 ccm konz. Schwefelsäure p. a. gelöst.

b) *15 %ige wässrige Lösung von Hydroxylaminchlorhydrat (Merck, 95 bis 98 %ig)*.

c) *Konz. Ammoniak*.

d) *Phenylalaninstandardlösung*. 0,1 g Phenylalanin werden in 100 ccm ammoniakhaltigen Wassers gelöst. 1 ccm dieser Lösung entspricht 1 mg Phenylalanin.

Beschreibung der Methode.

1 bis 4 mg Phenylalanin werden im festen Zustand in einem Kristallisierschälchen mit 2 ccm des Nitriergemisches versetzt und 20 Minuten lang am siedenden Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten wird der Inhalt des Schälchens vorsichtig mit wenig Wasser versetzt und in eine 25-ccm-Meßprouvette hinübergespült. Das Schälchen wird zweimal mit sehr wenig Wasser nachgespült, so daß schließlich die Meßprouvette 5 ccm Flüssigkeit enthält. Zum Abkühlen wird nun letztere in ein Becherglas mit eiskaltem Wasser gebracht und nach dem Erkalten die Flüssigkeit mit 5 ccm der Hydroxylaminchlorhydratlösung versetzt und kräftig geschüttelt. Schließlich wird unter starker Kühlung — am besten durch Eintauchen der Eprouvette in ein Becherglas mit Eiswasser — vorsichtig mit konzentriertem Ammoniak bis zur Marke 25 aufgefüllt. An der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten entsteht alsbald ein violetter Ring. Die Reaktionsflüssigkeit wird nun unter Kühlung unter dem Leitungsstrahl durch Umschwenken vorsichtig gemischt, wobei eine heftige Stickstoffentwicklung einsetzt. Nun wird die Eprouvette für 5 Minuten in ein Becherglas mit Wasser von 40° gebracht. Hier färbt sich schon die Lösung schwachviolett. Nach dieser Zeit wird das Reagenzglas für 15 Minuten in ein Becherglas mit eiskaltem Wasser gebracht, wobei es zur Entwicklung des Farbmaximums kommt. Nach 15 Minuten kann bereits mit einer analog behandelten Phenylalaninstandardlösung (1 bis 4 ccm dieser Lösung werden zunächst zur Trockne gebracht und dann wie oben verarbeitet) verglichen werden.

Grundbedingung für die Erlangung brauchbarer einwandfreier Resultate ist die Nitrierung *wasserfreien Phenylalanins* und die peinlichste Einhaltung gleicher Arbeitsbedingungen.

Nachstehend ein Auszug aus den Protokollen.

Die bezüglich der Empfindlichkeit dieser Reaktion angestellten Versuche ergaben, daß noch 0,1 mg Phenylalanin in einem Flüssigkeitsvolumen von 15 ccm eine deutliche Rosafärbung liefern.

Tabelle I.

Zur Bestimmung verwendetes Phenylalanin	Gefundenes Phenylalanin	Zur Bestimmung verwendetes Phenylalanin	Gefundenes Phenylalanin
mg	mg	mg	mg
1,00	1,08	2,50	2,50
1,00	0,99	2,50	2,60
1,00	0,95	2,77	2,68
1,53	1,40	2,85	2,64
2,00	2,00	3,72	3,58
2,00	2,00	4,00	4,00
2,50	2,50	4,00	4,05

Die Violettfärbung ist einige Stunden hindurch unverändert haltbar. Ablesungen nach 4 bis 5 Stunden ergaben die gleichen Resultate wie solche nach 15 Minuten.

IV.

Bestimmung von Phenylalanin in Eiweißhydrolysaten.

In weiterer Arbeitsfolge sollte diese Reaktion auf ihre Verwendbarkeit für eine quantitative Bestimmung des Phenylalanins in Eiweißhydrolysaten geprüft werden. Zu diesem Zweck mußte vorerst festgestellt werden, wie sich die anderen in Eiweißhydrolysaten vorkommenden Aminosäuren dieser Reaktion gegenüber verhielten. Unter diesen kamen vor allem die zyklischen Verbindungen, und zwar das Tryptophan, Histidin, Tyrosin, Prolin und Oxyprolin in Frage.

Das *Tryptophan* gab wohl mit Salpeterschwefelsäure und bei nachfolgender Reduktion mit Hydroxylamin in Gegenwart von Ammoniak eine *braungefärbte* Lösung, schied aber von vornherein aus, weil es bei der *Säurehydrolyse* von Eiweiß vollkommen *zerstört* wird.

Das *Histidin* reagierte bei analoger Behandlung mit Salpeterschwefelsäure und Hydroxylamin unter Bildung einer *zitronengelben* Färbung, konnte aber aus dem Hydrolysat durch *Ausfällung* mit *Phosphorwolframsäure* unter Einhaltung bestimmter Vorsichtsmaßregeln, welche weiter unten gegeben werden, quantitativ entfernt und so vom Phenylalanin abgetrennt werden. Das Phenylalanin wird nämlich im Gegensatz zu Histidin durch Phosphorwolframsäure aus einer 0,125%igen Lösung¹ und in Anwesenheit von Leucin, welches ja in jedem Eiweißhydrolysat reichlich vorhanden ist, sogar aus einer 0,5%igen Lösung nicht mehr gefällt².

¹ Schultze u. Winterstein, Zeitschr. f. phys. Chem. 33, 574, 1901; 35, 210, 1902.

² Levene, Zeitschr. f. phys. Chem. 47, 149, 1906.

Prolin und *Oxyprolin* lieferten bei dieser Reaktion *keine gefärbten Verbindungen*.

Das *Tyrosin* gab mit Salpeterschwefelsäure das intensiv *gelb gefärbte Dinitrotyrosin*, welches mit Hydroxylamin und Ammoniak gelb blieb und die Phenylalaninreaktion empfindlich störte. Das Tyrosin muß also unbedingt vor der Phenylalaninbestimmung quantitativ *eliminiert* werden.

Wir versuchten in dieser Hinsicht verschiedene Reaktionen. Zunächst glaubten wir, das Tyrosin an *Blutkohle* adsorbieren zu können, kamen jedoch bald zur Überzeugung, daß die Adsorption nicht quantitativ verläuft, was wir auch in der Literatur bestätigt fanden¹.

Chlordioxyd zerstört angeblich *Tyrosin* und *Histidin*, *Phenylalanin* dagegen *nicht*². Diese Reaktion erschien uns sehr verlockend, da so in einer Prozedur beide störenden Substanzen, das Tyrosin und Histidin, entfernt würden. Einige von uns in dieser Richtung durchgeführten Versuche führten jedoch zu dem Ergebnis, daß auch *Phenylalanin* durch *Chlordioxyd* merklich zerstört wird, also mußte auch dieser Weg als ungangbar verlassen werden.

Eine *Trennung des Leucins vom Tyrosin* beruht auf der *Schwerlöslichkeit des Tyrosins in Eisessig*³. Da das Phenylalanin in Eisessig relativ leicht löslich ist, hofften wir auf diese Art das letztere vom Tyrosin befreien zu können. Aber auch diesbezügliche Versuche blieben resultatlos, weil immerhin noch genügende Mengen Tyrosin von Eisessig gelöst wurden und die Phenylalaninreaktion störten.

Da das Tyrosin sich vom Phenylalanin durch einen Gehalt an einer phenolischen Hydroxylgruppe unterscheidet, und solche Verbindungen einer *Oxydation* bekanntermaßen leicht zugänglich sind, versuchten wir schließlich das Phenylalanin vom Tyrosin durch Oxydation zu trennen.

Die zunächst mit *Wasserstoffsperoxyd* als Oxydationsmittel unternommenen Versuche schlugen fehl, weil hierbei auch das Phenylalanin zum Teil angegriffen wurde. Dagegen fanden wir im *Kaliumpermanganat* ein geeignetes Mittel, um Phenylalanin vom Tyrosin zu befreien, und zwar führten wir die Oxydation in saurer Lösung durch.

Über die Oxydierbarkeit des Tyrosins durch Kaliumpermanganat findet sich bis jetzt eine einzige Angabe⁴, und zwar wurde hierbei das Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung zur Anwendung gebracht. Bezüglich einer Oxydation des Tyrosins mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung ist nichts bekannt.

In unseren Versuchen fanden wir nun, daß das *Tyrosin* bereits in der Kälte sogar durch n/10 *Kaliumpermanganatlösung* vollkommen

¹ Warburg, diese Zeitschr. 113, 259, 1921.

² Schmidt, Ber. 54, 1871 u. 3243, 1921; 55, 1529, 1922.

³ Habermann, Zeitschr. f. phys. Chem. 37, 18, 1902; 59, 321, 1926.

⁴ Denis, J. of biol. Chem. 10, 74, 1911.

oxydiert wird. Die Millonsche und die Xanthoproteinreaktion bleiben augenblicklich aus.

Das *Phenylalanin* wird durch $n/10$ Kaliumpermanganatlösung in der Kälte nicht angegriffen.

Die Bestimmung von Phenylalanin in Gegenwart von Tyrosin gestaltete sich nun folgendermaßen: Die das Gemenge von Phenylalanin und Tyrosin enthaltende Flüssigkeit wurde mit 5 ccm 2 n Schwefelsäure und tropfenweise mit $n/10$ Kaliumpermanganatlösung bis zur beginnenden Rosafärbung versetzt und hierauf am Wasserbad eingengt. Von Zeit zu Zeit überzeugte man sich durch tropfenweises Hinzufügen von $n/10$ Kaliumpermanganatlösung, ob alles Tyrosin wegoxydiert worden ist, was daran zu erkennen war, daß das Kaliumpermanganat nicht mehr entfärbt wurde. Nachdem die Flüssigkeit bis zur öligen Konsistenz eingengt worden war, wurde sie nach dem Erkalten mit 2 ccm Nitriergemisch 20 Minuten lang erwärmt und sonst wie oben beschrieben verarbeitet.

Folgende Resultate wurden erhalten:

Tabelle II.

Zur Bestimmung gelangten	Gefunden Phenylalanin mg
2 mg Phenylalanin neben 2 mg Tyrosin	1,914
Dasselbe	1,970
"	2,000

Nach Überwindung dieser letzten Schwierigkeit gingen wir nun an die Versuche einer *quantitativen Bestimmung* von *Phenylalanin* in *Eiweißhydrolysaten* heran.

Die Hydrolyse von Eiweiß (1,5 bis 3 g) bewerkstelligten wir durch 20stündiges Kochen mit 25%iger Schwefelsäure. Das dunkelbraun gefärbte Hydrolysat wurde klar filtriert und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt (100 ccm). Zwecks Entfernung des störenden Histidins wurde das Hydrolysat mit Phosphorwolframsäure gefällt, welche Fällung auch den Vorteil hatte, daß die braunen Zersetzungsprodukte des Tryptophans an den Phosphorwolframsäureniederschlag adsorbiert wurden, so daß ein wasserklares, farbloses Filtrat resultierte. Die Phosphorwolframsäure darf jedoch keineswegs im Überschuß vorhanden sein, weil ein solcher die Phenylalaninbestimmung stört. Die Fällung wurde so vorgenommen, daß das Hydrolysat mit der entsprechenden Menge 10%iger Schwefelsäure und 10%iger Phosphorwolframsäure — die zu verwendenden Mengen schwanken je nach Eiweißart und sind weiter unten bei den einzelnen untersuchten Proteinen angeführt — versetzt und auf etwa 180 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt wurde. Hierauf wurde auf einem siedenden Wasserbad so lange erwärmt, bis die Basenfällung fast ganz wieder in Lösung gegangen war und dann über Nacht abkühlen gelassen. Am nächsten Tage wurde filtriert, der Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Wasser

nachgewaschen und das Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Ein aliquoter Teil (meist 20 ccm) des wasserhellen Filtrats wurde nun zur Eliminierung des Tyrosins mit n/10 Kaliumpermanganatlösung portionsweise in der Kälte bis zur schwachen Rosafärbung versetzt und am siedenden Wasserbad eingedampft. Von Zeit zu Zeit wurde geprüft, ob Kaliumpermanganatlösung nicht mehr entfärbt wurde.

War die Flüssigkeit bis zur öligen Konsistenz eingengt, so wurde nach dem Erkalten mit 2 ccm Nitriergemisch versetzt und 20 Minuten lang am siedenden Wasserbad erwärmt. Das Nitrierungsprodukt wurde mit wenig Wasser in die 25-ccm-Meßprouvette hinübergespült, das Kristallisierschälchen, in welchem die Nitrierung vorgenommen worden war, mit wenig Wasser nachgespült. Das Flüssigkeitsvolumen betrug jetzt etwa 8 bis 9 ccm. Nun wurden unter Kühlung 5 ccm der Hydroxylaminchlorhydratlösung hinzugesetzt, hierauf wurde kräftig geschüttelt und unter Eiskühlung mit konzentriertem Ammoniak vorsichtig bis zur Marke aufgefüllt. Die weitere Aufarbeitung war vollkommen analog der oben beschriebenen.

War das Tyrosin vollkommen zerstört worden, so erhielt man farblose Nitrierungsprodukte; bei Anwesenheit von nur Spuren Tyrosin resultierte eine gelbe Färbung, welche bei der weiteren Verarbeitung mit Hydroxylamin und Ammoniak die Phenylalaninreaktion empfindlich störte.

Die bei der Untersuchung von Eiweißhydrolysaten erhaltenen Färbungen ließen sich im allgemeinen sehr gut mit einer optisch gleichwertigen Phenylalaninstandardlösung vergleichen.

Mitunter kam es jedoch vor, daß ein bräunlicher Farbton, welcher erst in der letzten Phase der Reaktion, nämlich beim Übersättigen der Lösung mit starkem Ammoniak auftrat, den kolorimetrischen Vergleich der violetten Flüssigkeit erschwerte. In solchen Fällen half man sich durch Vorschalten eines blauen Glases vor das Okular.

Im folgenden bringen wir die Analysenwerte verschiedener Proteine.

Tabelle III.

1. Casein.

Je 1,5 g Casein wurden mit 7,5 ccm 25%iger Schwefelsäure hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde auf 100 ccm aufgefüllt und mit 18 ccm 10%iger Schwefelsäure und 45 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Je 20 ccm Filtrat wurden für eine Bestimmung verarbeitet, hierzu 15 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung portionsweise zugesetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
{ 4,52 4,80 4,81 5,26 5,28 5,33 }	5,00	{ 2,75—3,20 } { 2,68—3,40 }	E. Fischer, Abderhalden und Mitarbeiter* G. Kollmann**

* Vgl. Kestner, Chem. d. Eiweißkörper, S. 304, 1925.

** Biochem. Zeitschr. 194, 1, 1928.

2. Legumin.

Je 1,5 g Legumin wurden wie oben hydrolysiert und auf 100 ccm aufgefüllt. Das Hydrolysat mit 13,5 ccm 10 %iger Schwefelsäure und 33,5 ccm 10 %iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Je 20 ccm Filtrat mit 8 ccm n/10 Kaliumpermanganat portionsweise versetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
$\left. \begin{array}{l} 4,42 \\ 4,70 \\ 4,94 \\ 5,20 \\ 4,81 \\ 5,40 \\ 5,42 \end{array} \right\}$	4,98	$\left. \begin{array}{l} 2,87-4,79 \\ 4,8-5,3 \end{array} \right\}$	<i>Osborne*</i> <i>G. Kollmann</i>

* *Ergebn. d. Physiol.* 10, 112, 1910.

3. Edestin.

Je 1,5 g Edestin wie oben hydrolysiert, auf 100 ccm aufgefüllt, Hydrolysat mit 22,4 ccm 10 %iger Schwefelsäure und 56 ccm 10 %iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt, je 20 ccm mit 10 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung portionsweise versetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
$\left. \begin{array}{l} 3,55 \\ 3,81 \\ 4,01 \\ 4,01 \\ 4,25 \end{array} \right\}$	3,92	$\left. \begin{array}{l} 2,4-4 \\ 3,21-3,73 \end{array} \right\}$	<i>Abderhalden</i> und Mitarbeiter* <i>Kollmann</i>

* *Vgl. Kestner*, S. 231.

4. Hämoglobin.

Je 1,5 g Hämoglobin wie oben hydrolysiert, auf 100 ccm aufgefüllt. Hydrolysat mit 15 ccm 10 %iger Schwefelsäure und 37,5 ccm 10 %iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt, je 20 ccm Filtrat mit 6 ccm n/10 Kaliumpermanganat nach und nach versetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
$\left. \begin{array}{l} 5,08 \\ 5,18 \\ 5,30 \\ 5,32 \\ 5,49 \\ 5,40 \\ 5,61 \end{array} \right\}$	5,34	$\left. \begin{array}{l} 4,24-5,00 \\ 3,4-3,74 \end{array} \right\}$	<i>Abderhalden</i> und Mitarbeiter* <i>Kollmann</i>

* *Vgl. Kestner*, S. 358.

5. Elastin.

Je 1,5 g Elastin mit 7,5 ccm 25%iger Schwefelsäure hydrolysiert, auf 100 ccm aufgefüllt, Hydrolysat mit 4,4 ccm 10%iger Schwefelsäure und 11 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Je 20 ccm Filtrat ohne Kaliumpermanganat verarbeitet.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
{ 2,96 3,30 3,50 3,62 }	3,34	3,89	Nach <i>Kestner</i> *

* Vgl. *Kestner*, S. 281.

6. Zein.

Je 1,5 g Zein wie oben verarbeitet, auf 100 ccm gebracht. Hydrolysat mit 25,6 ccm 10%iger Schwefelsäure und 64 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure gefällt, Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Je 20 ccm Filtrat mit 12 ccm n/10 Permanganatlösung portionsweise versetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
{ 4,51 4,63 5,00 5,10 4,61 4,89 5,49 4,40 5,05 5,41 5,05 5,47 5,75 }	5,03	{ 6,6—7,6 6,3—6,74 }	<i>Osborne</i> * und <i>Dakin</i> ** <i>Kollmann</i>

* *Amer. J. Physiol.* 26, 295, 1910. — ** *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 130, 159, 1923.

7. Gelatine.

Je 3 g Gelatine mit 15 ccm 25%iger Schwefelsäure hydrolysiert, auf 100 ccm aufgefüllt. Diese mit 15 ccm 10%iger Schwefelsäure und 37,5 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure gefällt. Filtrat auf 200 ccm aufgefüllt. Je 20 ccm Filtrat mit 2 ccm n/10 Permanganatlösung versetzt.

Gefundenes Phenylalanin %	Mittelwert %	Literaturwerte %	Autoren
{ 0,93 1,09 1,14 1,18 }	1,15	0,4	<i>E. Schultze</i> *, <i>Spiro</i> ** und <i>E. Fischer</i> ***
{ 1,21 1,25 1,27 }		1,4	
		0,2—0,29	<i>Kollmann</i>

* *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 9, 120, 1884. — ** *Beitr. chem. Physiol. Pathol.* 1, 374.
 *** *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 35, 70, 1902. — **** *J. f. biol. Chem.* 44, 499, 1920.

Die von uns bei der Untersuchung einzelner Proteine erhaltenen Phenylalaninwerte stimmen im großen und ganzen mit den diesbezüglichen Literaturangaben überein. Lediglich sind die von uns für das Casein gefundenen Phenylalaninzahlen durchschnittlich um 2% höher und diejenigen für das Zein um 1,5 bis 2,5% tiefer als die entsprechenden Literaturwerte.

Wir haben uns nicht damit begnügt, von jeder Eiweißart nur ein einziges Hydrolysat zu untersuchen, sondern es sind durchweg von jedem Protein zwei verschiedene Hydrolysenflüssigkeiten, vom Zein sogar vier verschiedene Hydrolysate zur Verarbeitung gelangt. Die in der Tabelle III durch Klammern zusammengefaßten Zahlen sind Parallelbestimmungen ein und desselben Hydrolysats.

Schließlich haben wir noch Zusatzversuche mit Phenylalanin bei den Hydrolysaten von Elastin und Gelatine durchgeführt.

Tabelle IV.

A. Phenylalaninzusatzversuche bei Elastin.

1. Zu 10 ccm Filtrat (vgl. Tabelle III unter Elastin), entsprechend 0,075 g nativen Elastins, und 2,60 mg Phenylalanins wurden 1,5 mg Phenylalanin zugefügt und wie gewöhnlich aufgearbeitet.

4,37 mg Phenylalanin gefunden,
4,10 „ „ berechnet.

2. 10 ccm Filtrat + 2 mg Phenylalanin.

4,90 mg Phenylalanin gefunden,
4,60 „ „ berechnet.

3. 10 ccm Filtrat + 2,4 mg Phenylalanin.

5,09 mg Phenylalanin gefunden,
5,00 „ „ berechnet.

4. 10 ccm Filtrat + 0,8 mg Phenylalanin.

3,51 mg Phenylalanin gefunden,
3,40 „ „ berechnet.

B. Zusatzversuche bei Gelatine.

1. 20 ccm Filtrat (vgl. Tabelle III unter Gelatine), entsprechend 0,3 g ursprüngliche Gelatine, und 3,57 mg Phenylalanin wurden mit 1 mg Phenylalanin versetzt und das Gemenge wie sonst verarbeitet.

4,81 mg Phenylalanin gefunden,
4,57 „ „ berechnet.

2. 20 ccm Filtrat + 2 mg Phenylalanin.

5,40 mg Phenylalanin gefunden,
5,57 „ „ berechnet.

Qualitativer Nachweis von Phenylalanin in Hydrolysaten

Handelt es sich nicht um eine quantitative Bestimmung, sondern um einen qualitativen Nachweis von Phenylalanin in Hydrolysaten oder anderen Flüssigkeiten, so verfährt man hierbei folgendermaßen: Einige Kubikzentimeter des schwefelsauren Hydrolysats werden mit einigen Kubikzentimetern 10%iger Schwefelsäure und wenigen Kubikzentimeter 10%iger Phosphorwolframsäure versetzt und von dem entstandenen Niederschlag abfiltriert. Zum Filtrat wird $n/10$ Kaliumpermanganatlösung bis zur Rosafärbung zugesetzt und die Flüssigkeit bis zur öligen Konsistenz in einem Kristallisierschälchen eingeeengt. Nach dem Erkalten wird mit 2 ccm Nitriergemisch 20 Minuten lang am siedenden Wasserbad erwärmt. Der Inhalt des Kristallisierschälchens wird dann vorsichtig mit etwas Wasser in eine Epruvette hinübergespült, mit etwas Wasser verdünnt, unter Eiskühlung mit einigen Kubikzentimetern 15%iger Hydroxylaminchlorhydratlösung und hierauf mit der doppelten Menge starken Ammoniaks vorsichtig versetzt. An der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten erscheint alsbald ein *breiter violetter Ring*. Beschleunigt wird diese Reaktion durch Eintauchen der Epruvette in warmes Wasser (40°) und darauffolgendes starkes Abkühlen.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine neue Methode zur *kolorimetrischen Mikrobestimmung von Phenylalanin* angegeben, welche auf einer *Nitrierung des Phenylalanins zu 3, 4-Dinitrobenzoesäure* und einer Überführung der gebildeten Verbindung durch *Hydroxylamin in Gegenwart von Ammoniak* in das *blauviolett gefärbte Ammoniumsalz der o-diaci-Dihydrodinitrobenzoesäure* beruht. Zugleich wird nachgewiesen, daß das *Phenylalanin* mit *Salpeterschwefelsäure direkt in p-Nitrobenzoesäure* übergeht, ohne daß vorher Benzoesäure als Zwischenprodukt gebildet würde. *p-Nitrobenzoesäure*, analog wie Phenylalanin verarbeitet, liefert dasselbe intensiv *blauviolett gefärbte Endprodukt*.

Für den Reaktionsverlauf wird ein Schema angeführt.

0,1 mg Phenylalanin läßt sich mittels dieser Methode noch sehr deutlich nachweisen.

2. Dieses Verfahren wurde auch zu einer *quantitativen Bestimmung von Phenylalanin in Eiweißhydrolysaten* ausgebaut. Von den in den Hydrolysierflüssigkeiten enthaltenen Aminosäuren *stören* vor allem das *Histidin* und das *Tyrosin*. Das *Histidin* wird durch *Phosphorwolframsäure*, das *Tyrosin* durch *Oxydation mit n/10 Kaliumpermanganatlösung im schwefelsauren Medium* entfernt.

3. Diese Methode bietet gegenüber den bisher beschriebenen Verfahren zur Bestimmung des Phenylalanins in Eiweißhydrolysaten vor

allen den Vorteil einer rasch arbeitenden und mit einem sehr geringen Materialaufwand verbundenen *Mikromethode*.

4. Es wird der Phenylalaningehalt einzelner untersuchter Proteine angeführt und mit den diesbezüglichen Literaturwerten verglichen.

Folgende Phenylalaninmittelwerte wurden von uns gefunden: Für das *Casein* 5,00%, *Legumin* 4,98%, *Edestin* 3,92%, *Hämoglobin* 5,34%, *Elastin* 3,34%, *Zein* 5,03% und für die *Gelatine* 1,15%.

Die meisten Zahlen stimmen mit den Literaturangaben gut überein; beim *Casein* wurde lediglich ein höherer, beim *Zein* ein tieferer Wert, als in der Literatur angeführt, gefunden.

5. Der *qualitative Nachweis* des *Phenylalanins* in biologischen Flüssigkeiten wird beschrieben.

6. Selbstverständlich kann diese Reaktion auch zur *quantitativen Bestimmung von p-Nitrobenzoesäure* herangezogen werden.

7. Es wird auf die irrige Auffassung der *Mohlerschen* Benzoesäurereaktion seitens verschiedener Autoren aufmerksam gemacht und eine richtige Deutung dieser Reaktion versucht.

Braunstein, A. E. und M. M. Lewitow. Zur Kenntnis der biologischen Wirkung des Arsenats. III. Mitteilung: Versuche über biochemische Veresterung von Arsenat durch Hefe	56
Lieben, Fritz und Luise Löwe. Zur Frage des Bindungsortes von Schwermetallen an Eiweiß	64
— — Über den Abbau von Glucose, Fructose und Glucosamin durch Bakterien	70
Urbach, Carl. Quantitative Bestimmung des Magnesiums im Harn mittels des Stufenphotometers. II.	74
Stern, K. G. und E. Stern. Über die Proteinasen insektivorer Pflanzen	81
Barrenscheen, H. K. und Nikolaus Alders. Über den Kohlenhydratstoffwechsel der ruhenden und tätigen Milchdrüse	97
Szörényi, Emerich. Über die Schutzwirkung optischer Desensibilisatoren gegenüber lichtbiologischen Vorgängen	113
Klenitzky, Jacob. Die mitogenetische Strahlung der weißen Blut-elemente	126
Marek, J., O. Wellmann und L. Urbanek. Über die knochensalzlösende Wirkung des Blutserums gesunder und rhachitischer Ferkel	131
Kleinmann, H. und G. Scharr. Untersuchungen über tierische Gewebsproteasen. IX. Mitteilung: Über proteolytische Fermente im Serum verschiedener Tierarten	145
Kapeller-Adler, Regine. Über eine neue Reaktion zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Phenylalanins	185
Steinitz, Hermann und Ilse von Riesen. Mikrobestimmung der Fructose im Blut	201
Jendrassik, A. „Zur Kenntnis des D-Vitasterins IV.“ Aktivierung von Ergosterinlösungen durch Bestrahlung mit natürlichem Licht	205
Aszódi, Zoltán. Über die Darstellung von kristallisiertem Hämoglobin aus Menschenblut	212
Neuberg, Carl und Maria Kobel. Über die Oxydation des Methylglyoxals zu Brenztraubensäure mit molekularem Sauerstoff	215

Vor kurzem erschienen:

Biologische Daten für den Kinderarzt

Grundzüge einer Biologie des Kindesalters

Erster Band:

Wachstum (Körpergewicht, Körperlänge, Proportionen, Habitus). — Skelettsystem — Blut — Kreislauf — Verdauung

Von **Dr. Joachim Brock**

Privatdozent, Oberarzt der Universitäts-Kinderklinik, Marburg a. L.

Mit 23 Abbild. XI, 252 Seiten. 1932. RM 18.60; geb. RM 19.60

Aus dem Vorwort: Dieses Buch wendet sich an alle Ärzte, welche mit Kindern zu tun haben, sei es in Klinik, Sprechstunde oder sozialer Fürsorge. Mit einer ausführlichen Berücksichtigung des Neugeborenen hofft es, auch dem Geburtshelfer zu dienen. Und schließlich will es auch dem theoretischen Biologen die Kenntnisse der Besonderheiten des Kindes auf seinen verschiedenen Entwicklungsstufen vermitteln, welche dieser immer weniger entbehren kann. — Auf Morphologisches und Anatomisches wird nur soweit eingegangen, als dieses physiologisches oder klinisches Interesse hat, also besonders in den beiden ersten Kapiteln. In erster Linie sind die Funktionen des kindlichen Organismus dargestellt, wobei die Kenntnis der allgemeinen Physiologie und der Verhältnisse beim Erwachsenen im allgemeinen als bekannt vorausgesetzt ist. Die Auswahl des Stoffes ist aus den Bedürfnissen des Klinikers heraus erfolgt. — Das Buch verfolgt drei Ziele. Angesichts einer besonders in den letzten 10 Jahren immer mehr angewachsenen Literatur sollen die in zahlreichen zusammenfassenden Arbeiten über die verschiedenen Teilgebiete und in zahllosen Einzelarbeiten verstreuten biologischen Daten über das normale Kind aller Entwicklungsstufen gesammelt und in einem Buche vereinigt zum Nachschlagen dargeboten werden. Zweitens bringt das Buch eine knappe, aber kritische Darstellung der biologischen Zusammenhänge, wobei die Lücken unseres Wissens keineswegs verschwiegen werden; es hofft damit auch der weiteren Forschung zu dienen. Schließlich wird am Ende jedes Abschnittes so viel Literatur (unter Bevorzugung zusammenfassender Abhandlungen und neuerer Arbeiten) nachgewiesen, daß von ihr aus jede weitere Orientierung möglich ist. — Für den zweiten Band hat Verfasser zwei Mitarbeiter gewonnen, Herrn E. Thomas-Duisburg für die Kapitel „Urogenitalsystem“ und „Inkretorgane“, Herrn A. Peiper-Berlin für das Kapitel „Nervensystem“ (inkl. „Sinnesorgane“). Damit sind diese Abschnitte den sachkundigsten Bearbeitern anvertraut, andererseits ist erreicht, daß der Schlußband noch im Jahre 1933 erscheinen wird.

Physiologie und Pathologie der Verdauung im Säuglingsalter. Von Dr. E. Freudenberg, Professor an der Universität Marburg a. L. Mit 40 Abbildungen. V, 201 Seiten. 1929. RM 14.80; gebunden RM 16.80*

Physiologie des Kindesalters. Von Dr. Egon Helmreich, Privatdozent für Kinderheilkunde an der Universität Wien.

Erster Teil: **Vegetative Funktionen.** Kraftwechsel, Stoffwechsel, Kreislauf, Blut, Atmung, Verdauungstrakt, Harntrakt. (Bildet Band 24 der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere“.) Mit 6 Abbildungen. VIII, 364 Seiten. 1931. RM 28.—; gebunden RM 29.80*

Zweiter Teil: **Die animalischen Funktionen.** Erscheint im Laufe des Jahres 1932.

* Auf die Preise der vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Notnachlag von 10% gewährt.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-München, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedmann-Moskau, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Stockholm, V. Henri-Zürich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Berlin, R. Höber-Kiel, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Genf, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, W. Nernst-Berlin, K. Noack-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Paris, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzár-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg, Berlin-Dahlem

unter redaktioneller Mitarbeit von **M. Jacoby-Berlin**

Sonderabdruck aus 258. Band, 5.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Edith Lauda:
**Über ätherlösliche Säuren im Harn bei
 verschiedener Ernährung**



Berlin
 Verlag von Julius Springer

1933



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *ℳ* 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber

Herrn Prof. Dr. C. Neuberger, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, oder an Herrn Prof. Dr. M. Jacoby, Berlin W 35, Derfflingerstr. 19, zu richten.

Das Honorar beträgt *ℳ* 40.— für den 16seitigen Druckbogen.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1\frac{1}{2}$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Der Verlag bittet, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse gebeten, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

258. Band

Inhaltsverzeichnis

5.—6. Heft

	Seite
Meyerhof, O., Ch. L. Gemmill und G. Benetato. Über den isometrischen Koeffizienten des Sauerstoffs normaler und jodessigsäure-vergifteter Muskeln	371
Przyłęcki, St. J. v. und M. Z. Grynberg. Untersuchungen über die Bindung der Biokolloide. XV. Mitteilung: Eiweiß und Nuclein sowie dessen Abbauprodukte	389
Büttner, Gerhard. Über die Bindung organischer Basen an Proteine. I. — Über die Bindung organischer Basen an Proteine. II. Mitteilung: Die Peptisation des Caseins durch Adrenalinbase	401 414
Ohle, Waldemar. Chemisch-stratigraphische Untersuchungen der Sedimentmetamorphose eines Waldsees	420
Kapeller-Adler, Regine und Edith Lauda. Über ätherlösliche Säuren im Harn bei verschiedener Ernährung	429
Jurišić, P. J. Untersuchungen zur physikalischen Chemie der Resorption. IV.	449
Rappaport, Fr. und Fr. Gottdenker. Eine Apparatur zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches von Kleintieren	460

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über ätherlösliche Säuren im Harn bei verschiedener Ernährung.

Von

Regine Kapeller-Adler und Edith Lauda.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1932.)

Mit der Frage über das Vorkommen organischer Säuren im Harn haben sich bereits viele Forscher beschäftigt¹. Kommt doch den meisten dieser Säuren gewiß eine Bedeutung bei der Beeinflussung des Säuren-Basengleichgewichtes zu und spielen sie ja sicherlich beim Ablauf der einzelnen Stoffwechselprozesse eine gewichtige Rolle.

Eine exakte Methode zur direkten Bestimmung des Gehaltes des Harnes an den einzelnen organischen Säuren ist bisher nicht bekanntgeworden. Das einzige in dieser Richtung zugängliche Verfahren von *van Slyke* und *Palmer*² liefert auch nur einen annähernden Wert für den Gehalt des Harnes an der Gesamtheit organischer Säuren, da Kreatin und Kreatinin mitbestimmt werden. Da somit eine direkte Bestimmung der organischen Säuren im Harn mit großen Schwierigkeiten verbunden ist und nur ungenaue Resultate ergibt, beschränken sich die meisten Autoren auf die Untersuchung gewisser Fraktionen der im Harn vorkommenden organischen Säuren, und zwar meistens auf diejenige des *ätherlöslichen Anteiles*.

I.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit legten wir uns die Frage vor, inwieweit verschiedene Ernährungsweise einen Einfluß auf die Natur und die Größenordnung der im Harn zur Ausscheidung gelangenden ätherlöslichen organischen Säuren ausübe. Da *Neubauer*³ gefunden hat, daß Kaninchenharn bei Rübenfutter einen sehr konstanten Gehalt an ätherlöslichen Säuren aufweisen, führten wir unsere Untersuchungen zunächst an einem *Kaninchen* aus, und zwar schalteten wir folgende zehntägige Fütterungsperioden ein: a) *Kohl-*, b) *Karotten-* und c) *Haferdiät*.

¹ Vgl. die diesbezügliche Literatur in Oppenheimers Handb. d. Biochem. 5, 573, 1925.

² J. of biol. Chem. 49, 567, 1920.

³ Arch. f. exper. Pathol. 61, 387, 1909.

Das Untersuchungskaninchen befand sich während der einzelnen zehntägigen Fütterungsperioden in einem Stoffwechsellkäfig; der Harn wurde unter Toluol gesammelt und die jeweilige Menge genau abgemessen. Zwecks Herstellung eines Ätherextraktes wurde täglich die filtrierte Harnmenge am Wasserbad bis zur sirupösen Konsistenz eingengt. Hierauf säuerten wir den aus der zehntägigen Harnmenge gewonnenen Sirup mit Phosphorsäure stark an und unterwarfen ihn im rotierenden *Lindtschen* Extraktionsapparat einer 24stündigen Extraktion mit warmem Äther. Zum Erwärmen der Extraktionskölbchen dienten *Siemenssche* Kochplatten. Diese Extraktion wurde noch zweimal je 24 Stunden wiederholt. Nach dieser Zeit konnten wir uns überzeugen, daß der Äther keine sauren Stoffe mehr aus dem Harn aufnahm. Die vereinigten Ätherextrakte, welche scharf vom ausgezogenen Harn abgetrennt worden waren, wurden mit wenig Wasser gewaschen, mit geschmolzenem Natriumsulfat getrocknet und vom größten Teil des Äthers durch Vakuumdestillation bei Zimmertemperatur befreit. Der auf diese Weise konzentrierte Ätherauszug, dessen Volumen nun 250 bis 500 ccm betrug, wurde in Flaschen mit eingeschlifffem Stopfen aufbewahrt und bildete das Ausgangsmaterial für die nachfolgenden Untersuchungen.

Zunächst wurde die *Gesamtazidität* des Ätherextraktes bestimmt. Dabei gingen wir so vor, daß wir einen aliquoten Teil desselben im Vakuum bei Zimmertemperatur vom Äther befreiten, den Rückstand in Wasser aufnahmen und die Lösung unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator mit einer genau gestellten $n/10$ Lauge titrierten. Sämtliche Titrationswerte wurden in Milligramm Carboxyl angegeben.

Welche ist nun die Natur dieser Säuren, deren Gesamtgehalt wir im Ätherextrakt bestimmt haben?

Aus der Literatur¹ war bekannt, daß eine Reihe flüchtiger und nichtflüchtiger organischer Säuren im Harn nachgewiesen worden ist. Unter den *flüchtigen* die *Ameisensäure*, *Essigsäure*, *Propionsäure* und *Buttersäure*, unter den *nichtflüchtigen* *Milchsäure*, *Oxalsäure*, *Bernsteinsäure*, *Citronensäure* und *Hippursäure*.

Wir versuchten also zunächst in den gewonnenen Ätherextrakten einen Nachweis der erwähnten Säuren zu führen. Vor allem mußte eine Abtrennung der flüchtigen von den nichtflüchtigen Säuren erfolgen. *Welde*² hat ein geeignetes Verfahren zur Isolierung flüchtiger Fettsäuren angegeben. Die letzteren werden aus dem Gemisch durch Vakuumdestillation bei einer Wasserbadtemperatur von 60° bei 10 bis 15 mm Druck abgetrieben, bei welcher Prozedur eine Neubildung flüchtiger Fettsäuren vollkommen auszuschließen ist. Wir bedienten uns dieser Methode zur Abtrennung der flüchtigen Säuren aus unseren Ätherauszügen, wobei wir jedoch die Wasserbadtemperatur nicht über 45° steigen ließen. Die überdestillierenden flüchtigen Säuren wurden in einer bestimmten überschüssigen Menge $n/10$ Lauge aufgefangen und

¹ Vgl. Oppenheimers Handb. I. c.

² Diese Zeitschr. 28, 504, 1910.

das Destillat auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Dieses stellte die *Fraktion der flüchtigen Säuren* dar.

In einem aliquoten Teil derselben wurde zunächst die *Gesamtazidität* dieses Anteiles durch Rücktitration der überschüssigen n/10 Lauge bestimmt. In dieser Fraktion gelang uns lediglich der Nachweis der *Ameisensäure*. Die übrigen hier in Betracht kommenden Säuren konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Untersuchung des *nichtflüchtigen Anteiles* der Ätherextrakte ergab das Vorhandensein von *Milchsäure*, *Oxalsäure*, *Citronensäure* und *Hippursäure*. Dagegen konnten wir auf keinerlei Weise Bernsteinsäure nachweisen. Allerdings war es auch *Salkowski*¹, *Radziejewski*², *Longo*³ und *Marjori*⁴, welche Autoren sich mit der Frage der Bernsteinsäureausscheidung im Harn befaßten, nicht gelungen, Bernsteinsäure im Harn aufzufinden.

Nachdem das Vorhandensein der einzelnen oben erwähnten Säuren durch Nachweisreaktionen sichergestellt worden war, wurde der Versuch einer quantitativen Bestimmung dieser Substanzen unternommen.

Die *quantitative Bestimmung der Ameisensäure* führten wir nach *Klein*⁵ aus, indem wir einen aliquoten Teil des in der Vakuumdestillation nach *Welde* gewonnenen und in überschüssiger n/10 Lauge aufgefangenen Destillates erhitzten und mit überschüssiger n/10 Kaliumpermanganatlösung oxydierten. Der Überschuß an Kaliumpermanganat wurde mit n/10 Oxalsäure und genügend verdünnter Schwefelsäure zersetzt und die überschüssige Oxalsäure mit n/10 Permanganatlösung zurücktitriert. Genaues Einhalten dieser Vorschrift erwies sich als unbedingt erforderlich.

Die *Milchsäurebestimmungen* führten wir nach *Friedemann*, *Cotonio* und *Schaffer*⁶ in der Modifikation von *Friedemann* und *Kendall*⁷ aus. Diese Methode beruht darauf, daß die Milchsäure nach *Fürth-Charnass*⁸ zu Acetaldehyd oxydiert wird und der Acetaldehyd nach Kondensation des Wasserdampfes in einem Rückflußkühler durch einen Luftstrom übertrieben und in einem großen Überschuß von Natriumbisulfit aufgefangen wird. Das gebundene Bisulfit wird nach *Clausen*⁹ mit einer genau eingestellten Jodlösung titriert.

Das älteste und meist geübte Verfahren zur *Bestimmung der Oxalsäure* im Harn ist dasjenige von *Salkowski*¹⁰, demzufolge die Oxalsäure aus dem angesäuerten Harn mit Äther ausgezogen und im Extrakt nach

¹ Ann. 171, 208, 1874.

² Virchows Arch. 43, 178.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 213, 1877.

⁴ Jahrb. f. Tierchem. 26, 74, 1896.

⁵ Ber. 39, 2641, 1906.

⁶ J. of biol. Chem. 73, 335, 1927.

⁷ Ebenda 82, 23, 1929.

⁸ Diese Zeitschr. 26, 199, 1910.

⁹ J. of biol. Chem. 52, 263, 1922.

¹⁰ Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 437, 1900.

Abdunsten des Äthers als Calciumoxalat gefällt wird. Das Calciumoxalat wird durch Glühen in Calciumoxyd übergeführt und gravimetrisch bestimmt. Wir modifizierten diese Methode ein wenig, indem wir vor allem den Gehalt der Oxalsäure auf oxydimetrischem Wege ermittelten: Hierbei verfahren wir so, daß wir einen aliquoten Teil des Ätherextraktes in ein Zentrifugenrohr nach *de Waard*¹ brachten, den Äther verdunsten ließen, den Rückstand in Wasser aufnahmen, mit etwas Ammoniak schwach alkalisierten, mit einem Tropfen Essigsäure versetzten, zum Kochen erhitzen und die heiße Lösung mit einer kochenden, gesättigten Calciumchloridlösung fällten. Nach zwölfstündigem Stehen wurde die überstehende Flüssigkeit abzentrifugiert, der Niederschlag dreimal mit je 3 ccm Wasser gewaschen, die letzte Waschflüssigkeit abgegossen, der Niederschlag in 1 ccm einer Schwefelsäure (1 : 4) gelöst und die freigesetzte Oxalsäure mit einer n/100 Kaliumpermanganatlösung in der Hitze nach *de Waard* (l. c.) titriert, bis die rosa Farbe durch 2 Minuten bestehen blieb. Von der verbrauchten Menge Permanganat wurden als Korrektur bei einem Zusatz von 0,1 bis 1 ccm 0,02 ccm, bei einem solchen von 1 bis 2 ccm 0,03 ccm in Abzug gebracht, d. i. jene Menge Permanganat, welche erforderlich ist, um einem gleich großen Volumen reinen Wassers die gleiche Rosafärbung wie der untersuchten Lösung zu erteilen.

Statt der Ausfällung der Oxalsäure mit Calciumchlorid nahmen wir noch eine andere Fällungsmethode vor, nämlich eine solche mit Calciumacetat und Kalkwasser. Die nach beiden Methoden erhaltenen Werte erwiesen sich als vollkommen identisch.

Die *Citronensäure* bestimmten wir nach *P. A. Kometiani*². Dieses Verfahren beruht auf einer vorsichtigen Oxydation der Citronensäure zu Acetondicarbonsäure und Überführung dieser Substanz durch Brom zu Pentabromaceton, welches isoliert und jodometrisch bestimmt wird.

Für die *Hippursäurebestimmung* im Harn sind viele Methoden ausgearbeitet worden³. Viele von ihnen beruhen auf einer Extraktion der Hippursäure aus dem Harn mittels Äthers oder Essigsäureäthylesters und auf einer darauffolgenden entweder direkten Bestimmung der Hippursäure durch Kjeldahlisieren oder einer indirekten durch Spaltung der isolierten Hippursäure und Ermittlung des Benzoesäure- oder Glykokollgehaltes. Vor dem Essigsäureäthylester hat der Äther den Vorzug, daß er aus dem angesäuerten Harn praktisch weder Harnstoff noch irgendeine andere stickstoffhaltige Substanz extrahiert.

Nach vielen verschiedenartigen Versuchen gingen wir bei der Bestimmung des Hippursäuregehaltes unserer Ätherextrakte schließlich so vor, daß wir einen aliquoten Teil des jeweiligen Auszuges, den wir übrigens immer zur Entfernung eventuell mitgerissener Spuren von Harnstoff mit wenig Wasser ausschüttelten, einer Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* unterwarfen und den erhaltenen Stickstoffwert auf Hippursäure umrechneten. Einige der Kontrolle halber durchgeführte Hippursäurebestimmungen eines Ätherextraktes nach *Hryntschak*⁴ ergaben sehr ähnliche Hippursäurewerte.

¹ Diese Zeitschr. 97, 186, 1919.

² Zeitschr. f. analyt. Chem. 86, 360, 1931.

³ Vgl. Literatur bei *Béznak*, diese Zeitschr. 205, 408, 1929.

⁴ Ebenda 43, 315, 1912.

Tabelle I.

Ätherextrakt	Kaninchenharn nach Kohlfutter		Kaninchenharn nach Rübenfutter		Kaninchenharn nach Haferfutter		Hunde-harn nach reichlichem Fleischfutter		Normaler Menschenharn	
	in mg	COOH in mg	in mg	COOH in mg	in mg	COOH in mg	in mg	COOH in mg	in mg	COOH in mg
Gesamtazidität	162,00	162,00	191,25	191,25	47,25	47,25	157,50	168,75	383,49	383,49
Flüchtige Säuren	36,00	36,00	33,75	33,75	9,00	9,00	67,50	67,50	41,09	41,09
Ameisensäure	10,59	10,88	6,07	6,07	6,14	6,00	39,54	39,54		36,98
Milchsäure	10,11	4,45 4,77 5,04 5,40 5,58	20,57	10,19 10,38	2,04	0,99 1,03 1,04	26,32	13,16	35,88	36,64
Oxalsäure	20,80	20,80	Spuren	Spuren	8,56	8,43 8,69	25,48	25,48	6,30	7,39
Citronensäure	15,00	10,54	3,87	2,39 3,02	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren	11,21	13,08
Hippursäure	261,00	72,07 70,55	123,75	30,78 36,00	68,47	18,00 19,35	103,13	28,12	246,50	267,00
Nicht bestimmter Säurerest	18,34	18,34	111,13	111,13	9,99	9,99	34,49	34,49		29,47

Snapper und *Laqueur*¹ bestimmen übrigens auch die Hippursäure im Harn durch Kjeldahlisieren des durch Ausziehen des Harnes mit Essigsäureäthyläther gewonnenen Extraktes. Die Extraktion mit Essigsäureäthylester hat jedoch, wie schon erwähnt, den Nachteil, daß größere Mengen Harnstoff und Kreatinin, welche nur schwer zu entfernen sind, mit ausgezogen werden.

Zwecks Beleuchtung des Problems der Beeinflußbarkeit der Ausscheidungsgröße organischer Säuren durch die Ernährungsweise von verschiedenen Seiten wurden außer den erwähnten Kaninchenharnen noch ein *Hundeharn* bei *reiner Fleischdiät* und ein *normaler Menschenharn* bei gemischter Kost untersucht.

Die Anfertigung des Ätherextraktes aus dem Hundeharn erfolgte vollkommen analog derjenigen aus Kaninchenharnen. Bei schwach alkalischer Reaktion wurde die 48-Stunden-Menge auf ein kleines Volumen eingengt, der erhaltene Sirup mit Phosphorsäure stark angesäuert und mit Äther wie oben extrahiert.

Der Menschenharn wurde hingegen vor dem Extrahieren nicht eingengt, sondern mit Phosphorsäure stark angesäuert und mit Äther dreimal je 24 Stunden im *Lindtschen* Apparat ausgezogen.

Die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen von Harnen bei *rein vegetabilischer*, *rein animalischer* und *gemischter Diät* haben wir in Tabelle I zusammengefaßt.

II.

Vergleichen wir nun die bei den einzelnen Fütterungsversuchen erhaltenen Zahlen miteinander, so ergibt sich folgendes.

A. Kaninchenharn.

Die *Gesamtazidität* des Ätherextraktes, ausgedrückt in Milligramm Carboxyl für die Tagesmenge ist am *größten* nach *Rübenfutter*, etwas *geringer* nach *Kohldiät* und *sinkt* nach *Haferkost* auf etwa ein Viertel dieses Betrages herab. Der Gehalt des Ätherextraktes an *flüchtigen Säuren* beläuft sich rund auf ein Viertel bis ein Fünftel der Gesamtazidität. Was das Vorkommen der *Ameisensäure* betrifft, so haben wir nach *Kohlfutter* in der Tagesmenge rund *11 mg*, nach *Rüben-* und nach *Haferfutter* je *6 mg* gefunden.

*Bonanni*² führt für den Kaninchenharn einen Ameisensäuregehalt von 6 bis 8 mg für die Tagesmenge an. *Dakin* und Mitarbeiter³ geben einen Ameisensäurewert von 3 bis 10 mg für den Kaninchentagesharn an. Die von uns gefundenen Zahlen stimmen also gut mit den aus der Literatur bekannten überein. Die im Harn zur Ausscheidung gelangende Ameisen-

¹ Diese Zeitschr. 145, 32, 1923.

² Jahresber. d. Tierchem. 35, 120, 1905.

³ J. of biol. Chem. 14, 341, 1913.

säure ist teils exogenen, teils endogenen Ursprungs. *Dakin* (l. c.) gelang es nämlich nachzuweisen, daß auch während des Hungers Ameisensäure, wenn auch in einem geringeren Maße als sonst, im Harn ausgeschieden wird. *Schotten*¹ erklärt das relativ erhebliche Vorkommen der Ameisensäure im Harn damit, daß die kohlenstoffärmeren flüchtigen Säuren weniger leicht als die kohlenstoffreicheren im Organismus verbrannt werden und unverändert in den Harn übergehen.

Was die *Milchsäurewerte* anlangt, so erhielten wir nach *Rübenfutter* rund 20,5 mg pro Tag, nach *Kohlfutter* etwa die Hälfte und nach *Haferfutter* nur einen geringen Bruchteil, rund 2 mg Milchsäure für die Tagesmenge. *Fürth*² gibt als Normalwerte beim Kaninchen 10 bis 21 mg Milchsäure in der Tagesmenge an. Die von uns ermittelten Werte stehen also mit dieser Angabe sehr gut in Einklang.

Oxalsäure wurde im Kaninchenharn nach *Rübenfutter* nur in Spuren, bei *Haferdiät* in einer Höhe von 8,56 mg und bei *Kohlernahrung* zu 20,80 mg für die Tagesmenge gefunden.

*Wegrzynowski*³ fand im Kaninchenharn nach Rübenfütterung 1 mg Oxalsäure pro Tag, also auch nicht viel mehr als wir, nach Haferfutter hingegen nur 1,1 bis 2,4 mg im Tagesharn. Dagegen gibt *Hildebrandt*⁴ für Kaninchenharn bei reiner Haferdiät Oxalsäurewerte von 4,8 bis 15 mg pro Tag an. Nach den Versuchen vieler Autoren, wie *Mills*⁵, *Lüthje*⁶, *Jastrowitz*⁷, *Pincussen*⁸ und *Wegrzynowski* hat man bei der im Harn zur Ausscheidung gelangenden Oxalsäure zwischen einer exogenen, von der Art der Nahrung abhängigen, und einer endogenen, im Körper selbst entstehenden Form zu unterscheiden. Die erstere ist bei oxalatreicher Kost, wie nach Darreichung von Spinat, Rosenkohl, grünen Bohnen usw. am höchsten.

Unsere in den Fütterungsversuchen am Kaninchen erhaltenen Oxalsäurewerte stimmen gut mit den erwähnten Tatsachen überein, denn auch wir konnten nach Kohlfutter einen riesigen Anstieg des Oxalsäurewertes gegenüber den entsprechenden Befunden bei Rüben- und Haferdiät (anscheinend oxalatarme Nahrungsstoffe) feststellen.

Einen direkten Beweis für die Existenz einer endogenen Oxalsäure lieferte *Lüthje* bei einem Hunde, dessen tägliche Oxalsäureausscheidung in der zweiten Hungerwoche noch etwa 9 mg betrug. (Normalhundeharn enthält bei gemischter Diät 13 bis 23 mg Oxalsäure für die Tagesmenge.) Über die Herkunft der endogenen Oxalsäure bestehen verschiedene Theorien, indem außer den Fetten alle Körperklassen hierfür in Anspruch genommen

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 375, 1883.

² Diese Zeitschr. 64, 141, 1914.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. 83, 112, 1913.

⁴ Ebenda 35, 144, 1902.

⁵ Arch. f. Pathol. 99, 129, 1885.

⁶ Zeitschr. f. klin. Med. 35, 271, 1898.

⁷ Diese Zeitschr. 28, 35, 1910.

⁸ Oppenheimers Biochem. Handb. 5, 573, 1925.

worden sind. Nach Versuchen von *Pincussen*¹ ist es wahrscheinlich, daß die Purine und ihre Abbauprodukte als Muttersubstanzen der Oxalsäure fungieren können. Nach *Fürth*² könnte die Oxalsäure dem Allantoin oder aber gesteigerten Fäulnisvorgängen im Darm entstammen.

Bezüglich des *Citronensäuregehaltes* der einzelnen von uns untersuchten Ätherextrakte läßt sich feststellen, daß nach *Haferfütterung* nur Spuren von Citronensäure im Extrakt vorhanden waren; nach *Rübenfutter* betrug der Citronensäurewert 3,87 mg für den Tag und nach *Kohlfutter* ein Vielfaches davon, nämlich 15,00 mg für die *Tagesmenge*. Die Citronensäureausscheidung scheint somit auch in einem innigen Zusammenhange mit der Ernährungsweise zu stehen und ist am höchsten bei Verfütterung von grünem Gemüse. Auf die Tatsache des geringen Citronensäuregehaltes des Harnes bei Haferdiät kommen wir weiter unten noch zu sprechen.

Die *Hippursäurewerte* werden ebenfalls sehr stark von der Ernährungsart beeinflußt. Nach *Haferdiät* fanden wir für die *Tagesmenge* 68,47 mg, nach *Rübenfutter* 123,75 mg und nach *Kohlfütterung* 261,00 mg *Hippursäure*. Auch hier erhielten wir den höchsten Säurewert nach der Fütterung von grünem Gemüse.

Rechnet man die bei der Bestimmung der einzelnen Säuren erhaltenen Werte auf Milligramm Carboxyl um, addiert sodann die entsprechenden Werte und zieht die erhaltene Summe von der Gesamtazidität, die ja von vornherein in Milligramm Carboxyl angegeben ist, ab, so gibt der Rest die Menge der im Tagesharn enthaltenen *unbestimmten Säuren* in Milligramm Carboxyl an. Dieser unbestimmte Säurerest beträgt nach *Kohlfutter* nur ein *Achtel*, nach *Haferfutter* etwa ein *Viertel*, nach *Rübenfutter* jedoch fast *zwei Drittel* der *Gesamtazidität*. Welcher Art dieser große unbestimmte Säurerest nach Rübenfutter sei, konnten wir bis jetzt nicht bestimmen. Diese Fragestellung soll den Gegenstand einer eigenen Untersuchung bilden.

B. Hundeharn.

Die Untersuchung des Hundeharnextraktes bei reiner Fütterung mit sehr viel Fleisch ergab folgendes: Die *Gesamtazidität* belief sich auf 168,75 mg Carboxyl für die *Tagesmenge*.

Der Gehalt an *flüchtigen Säuren* betrug mehr als ein Drittel der Gesamtazidität.

Für die *Ameisensäure* ergab sich eine tägliche Ausscheidung von rund 40 mg.

¹ Diese Zeitschr. 99, 276, 1919; 126, 82, 1921.

² Lehrb. d. physiol. u. pathol. Chem. 2, 182, 1927; Verhandl. d. Ges. f. Verdauungs- u. Stoffwechselkrankh. S. 175, VII. Tagung, Wien 1927.

Dakin und Mitarbeiter fanden im Hundeharn bei reiner Fleischdiät 30 mg Ameisensäure für die Tagesmenge. Bei gemischter Kost enthält der Hundeharn nach *Pohl*¹ etwa 10 mg Ameisensäure, nach *Bonanni*² 5 bis 10 mg für den Tag. Reine Fleischkost scheint also eine Steigerung der Ameisensäureausscheidung zu bewirken.

Die *Milchsäurebestimmung* in diesem Ätherextrakt ergab eine tägliche Ausscheidung von 26,32 mg.

Der *Oxalsäuregehalt* belief sich auf 25,48 mg für die Tagesmenge.

Bei Ernährung des Hundes mit Reis und Speck findet *Wegrzynowski* 3 bis 6 mg Oxalsäure im Tagesharn. Bei gemischter Diät (Reis, Speck und Fleisch) enthält der Hundeharn 13 bis 23 mg Oxalsäure pro Tag. Nach eiweißreicher Diät steigt also die Oxalsäureausscheidung, was vor *Wegrzynowski* bereits *Mills*³ und *Stradomsky*⁴ konstatiert haben, und welche Tatsache auch bei unserem Hundefütterungsversuch deutlich zum Ausdruck kommt.

Citronensäure war in diesem Ätherextrakt nur in Spuren nachweisbar.

Eine ähnliche Feststellung konnte *Fasold*⁵ machen, welcher Autor Citronensäure in drei Menschenharnen bei fast reiner Fleischkost nicht feststellen konnte. Das Auftreten der Citronensäure im Harn scheint somit durch die Art der aufgenommenen Nahrung stark beeinflusst zu werden. *Oestberg*⁶ hat subnormale Citronensäurewerte bei Azidose gefunden und nimmt an, daß bei einseitiger Fleischkost Azidose hervorgerufen werde, welche eine starke Senkung der Citronensäureausscheidung verursache.

Hippursäure fand sich im Hundeharnextrakt in einer Höhe von 103,13 mg für den Tag vor.

Es ist seit langem bekannt, daß sich Hippursäure bei vorwiegend vegetabilischer Kost im Harn in größerer Menge vorfindet als bei animalischer. Daß aber die Hippursäure auch bei reiner Fleischkost nie im Harn fehlt, darauf hat schon *Yoshimura*⁷ hingewiesen. *Salkowski*⁸ gibt für den Hundeharn bei reiner Fleischfütterung eine tägliche Hippursäureausscheidung von 30 bis 90 mg an.

Der *nicht bestimmte Säurerest* beträgt bei diesem Ätherextrakt etwa ein Fünftel der Gesamtazidität.

C. Menschenharn.

Bei der Untersuchung des Menschenharns modifizierten wir die Versuchsbedingungen insofern, als wir den Harn ohne vorhergehendes

¹ Arch. f. exper. Pathol. 31, 286, 1893.

² l. c.

³ Virchows Arch. 99, 30, 1885.

⁴ Ebenda 163, 404, 1901.

⁵ Zeitschr. f. Biol. 90, 192, 1930.

⁶ Diese Zeitschr. 226, 162, 1930.

⁷ Coll. Agricult. Bull. 2, 221, 1895.

⁸ Ber. 11, 500, 1898.

Einengen auf ein kleines Volumen direkt nach Ansäuerung mit Phosphorsäure einer Ätherextraktion im rotierenden *Lindtschen* Apparat unterwerfen. Es wurde insgesamt dreimal je 24 Stunden mit etwa dem dreifachen Überschuß an Äther extrahiert. Es war uns von vornherein klar, daß bei dieser Versuchsanordnung die in Wasser leicht- in Äther schwerlöslichen Stoffe, wie Citronensäure und Oxalsäure, nur sehr mangelhaft von Äther ausgezogen werden würden. Immerhin interessierten uns die Ergebnisse dieses Versuchs gerade wegen der geänderten Arbeitsbedingungen.

Der gewonnene Ätherextrakt wurde vollkommen analog wie oben beschrieben, verarbeitet.

Die *Gesamtazidität* dieses Auszuges bestimmten wir zu 383,49 mg Carboxyl für die Tagesmenge, der Gehalt an *flüchtigen Säuren* belief sich auf 41 mg pro Tag.

*Rokitansky*¹ gibt 54 mg, *Magnus-Levy*² 60 mg an flüchtigen Säuren für den Tag an. *Lafargue*³ bestimmt im Mittel 78 mg flüchtige Säuren im Tag.

Die Hauptmenge der von uns gefundenen flüchtigen Säuren entfiel diesmal auf die *Ameisensäure* (rund 38 mg für den Tag).

*Dakins*⁴ Angaben bezüglich der Ameisensäureausscheidung im Menschenharn schwanken zwischen 29,9 und 118,6 mg; im Durchschnitt fand der Autor also 60 mg in der Tagesmenge. Demgegenüber findet *Strisover*⁵ für den normalen Menschenharn eine tägliche Ausscheidung von 10 bis 16 mg Ameisensäure.

Milchsäure konnten wir in unserem Ätherextrakt in einer Menge von 72,52 mg für den Tag feststellen.

Nach *Ishihara*⁶ enthält der normale Menschenharn 80 mg Milchsäure im Liter. *Clausen*⁷ hat im Normalharn 11 mg-%, *Varkany*⁸ zwischen 4,6 und 14,6 mg-% gefunden. *Lafargue* fand in der Tagesmenge rund 100 mg Milchsäure vor. Der von uns gefundene Milchsäurewert stimmt also ganz gut mit den Literaturwerten überein.

Was die *Oxalsäureausscheidung* betrifft, so konnten wir 6,84 mg in der Tagesmenge bestimmen.

¹ Wien. med. Jahresber. 2, 206, 1887.

² Arch. f. exper. Pathol. 45, 38, 1901.

³ Soc. chim. biol. 14, 1023, 1932.

⁴ J. of biol. Chem. 14, 341, 1913.

⁵ Diese Zeitschr. 54, 189, 1913.

⁶ Ebenda 50, 468, 1913.

⁷ J. of biol. Chem. 52, 263, 1922.

⁸ Diese Zeitschr. 184, 474, 1927.

*Fürbringer*¹ hat im normalen Menschenharn Oxalsäure bis zu 20 mg pro Tag festgestellt. *Dunlop*² hat 17 mg, *Autenrieth*³ 10 bis 20 mg Oxalsäure für den Tag gefunden. Bei oxalsäurefreier Kost sinkt nach *Mohr* und *Salomon*⁴ die Oxalsäureausscheidung sehr stark und geht auf 3 mg und weniger pro Tag herab. *Serkowski* und *Mozdzinski*⁵ führen eine Oxalsäureausscheidung von etwa 6 bis 50 mg für das Liter Harn an. *Wegrzynowski*⁶ fand schließlich, daß der Harn bei gemischter Kost 18,3 bis 19,4 mg Oxalsäure enthält.

Der von uns gefundene relativ niedrige Oxalsäurewert läßt sich wahrscheinlich darauf zurückführen, daß die Oxalsäure unter den geschilderten Arbeitsbedingungen nicht quantitativ vom Äther aufgenommen worden war, da sie ja in Wasser ungefähr sechsmal leichter löslich ist als in Äther.

Noch deutlicher kamen die Folgen der geänderten Arbeitsweise beim *Citronensäurewert* zum Ausdruck. Wir fanden nämlich im Ätherextrakt einen Citronensäuregehalt von 18,62 mg für den Tag. Vergleicht man diesen Wert mit den in der Literatur angeführten Citronensäurezahlen, so ergibt sich ein gewaltiger Unterschied.

So fand *Amberg*⁷ einen Citronensäuregehalt von 440 bis 474 mg für die Tagesmenge, *Thunberg*⁸ einen solchen von etwa 360 mg für das Liter Harn. *Oestberg*⁹ gibt eine tägliche Ausscheidung von 200 bis 1000 mg Citronensäure an.

Wir hatten also offenbar nur einen kleinen Bruchteil der im Harn vorhandenen Citronensäure mit Äther extrahiert, welche Vermutung plausibel wird, wenn man in Betracht zieht, daß die Citronensäure im Wasser rund 60mal leichter löslich ist als in Äther. Gingen wir nun von richtigen Voraussetzungen aus, so mußten sich in dem von der Ätherschicht abgetrennten wässrigen Harnanteil noch erhebliche Mengen Citronensäure vorfinden. Eine in dieser Richtung mit der Pentabromacetone methode unternommene Untersuchung ergab auch, daß sich in dem wässrigen Harnanteil noch 150,96 mg Citronensäure für den Tag vorfanden. Addiert man diesen Wert zu dem Citronensäurewert des Ätherextraktes, so ergibt sich ein Citronensäuregehalt von 169,58 mg für die Tagesmenge, ein Wert, der allerdings niedriger ist als die in der Literatur angegebenen Zahlen.

Wir unternahmen noch einen lediglich die Citronensäureausscheidung betreffenden Versuch, indem wir einen *Bruchteil* der Tages-

¹ Deutsch. Arch. klin. Med. 18, 143, 1876.

² J. of Pathol. 896.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 335, 1902.

⁴ Arch. f. klin. Med. 70, 486.

⁵ Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 264, 1910.

⁶ Ebenda 83, 112, 1913.

⁷ Amer. J. of Physiol. 44, 453, 1917.

⁸ Diese Zeitschr. 206, 109, 1929.

⁹ Ebenda 226, 162, 1930; Skand. Arch. Physiol. 62, 81, 1931.

menge eines *anderen normalen Menschenharnes* (20 ccm von 1340 ccm Tagesmenge) dreimal mit je 700 ccm Äther im *Lindtschen* Apparat extrahierten. Nach dem üblichen Einengen des Extraktes auf ein kleines Volumen bestimmten wir den Citronensäuregehalt und fanden 72,35 mg in der Tagesmenge. Weiter bestimmten wir die Citronensäuremengen in einem aliquoten Teil des nativen, nicht extrahierten Harnes und fanden einen Wert von 168,80 mg für die Tagesmenge. Aus diesem Versuch geht deutlich hervor, daß auch hier nur ein Teil der tatsächlich vorhandenen Citronensäure vom Äther aufgenommen worden ist, daß also zur quantitativen Extraktion der Citronensäure durch Äther ein vorhergehendes Einengen des Harnes bis zur sirupösen Konsistenz, wie wir es bei den bisherigen Versuchen beschrieben haben, unumgänglich notwendig ist.

In den beiden untersuchten Fällen haben wir viel tiefere Citronensäurewerte, als sie aus der Literatur bekannt sind, gefunden.

Nun gibt aber *Fasold*¹ an, daß die Citronensäureausscheidung sehr von der Art der Nahrung abhängig sei, derart, daß er in drei Fällen bei fast reiner Fleischdiät keine Citronensäure im Harn nachweisen konnte. Demgegenüber stellt *Oestberg* fest, daß es sich in den *Fasoldschen* Versuchen um kein völliges Verschwinden, sondern um eine Abnahme der Citronensäureausscheidung handle, bedingt durch die infolge einseitiger Fleischdiät hervorgerufene Azidose. *Oestberg* selbst hat bei Azidose subnormale Citronensäurewerte beobachtet. Tragen wir der *Oestbergschen* Ansicht Rechnung, so müssen wir den Schluß ziehen, daß es sich in den beiden von uns untersuchten Fällen um schwach azidotische Harnen handelt.

In diesem Zusammenhange möchten wir nochmals an unsere bei der Untersuchung der Extrakte des Kaninchenharnes bei Haferfutter und des Hundeharnes bei reiner Fleischdiät gemachten Beobachtungen erinnern. Wir konnten in beiden Fällen Citronensäure nur in Spuren nachweisen. Haferfutter scheint ebenso wie reine Fleischdiät Azidose hervorzurufen, welche in beiden Fällen die Citronensäureausscheidung sehr stark herabsetzt.

Die *Hippursäure* machte beim Ätherextrakt aus dem Menschenharn den Hauptanteil der extrahierten Säuren aus. Wir fanden sie in einer Menge von 941,45 mg für den Tag vor.

*K. Lewin*² gibt für den Menschenharn je nach der Ernährung 100 bis 2000 mg Hippursäure pro Tag an. *Lafargue* findet Hippursäurewerte zwischen 500 und 1500 mg für die Tagesmenge.

Überblickt man die von uns in allen Versuchen erhobenen Befunde, so läßt sich feststellen, daß die Art der Ernährung im allgemeinen einen

¹ Zeitschr. f. Biol. 90, 192, 1930.

² Zeitschr. f. klin. Med. 42, 371, 1901.

Einfluß auf die Ausscheidungsgröße der einzelnen ätherlöslichen Säuren ausübt.

Was den Einfluß der rein *vegetabilischen Nahrung* auf die Ausscheidungsgröße der ätherlöslichen Säuren betrifft, so müssen wir hervorheben, daß vor allem das grüne Gemüse, in unserem Falle Kohlfutter, die Ausscheidung dieser Säuren beträchtlich steigert. Dagegen beeinträchtigt Haferdiät ziemlich stark die Ausscheidung der einzelnen Säuren.

Reine Fleischdiät führt zur Erhöhung der Ameisensäure- und Oxalsäurewerte, dagegen ist der Hippursäuregehalt des Harnes sehr herabgesetzt und die Citronensäure nur mehr in Spuren nachweisbar.

Bei *gemischter Kost* werden alle erwähnten ätherlöslichen Säuren im Harn in reichlicher Menge ausgeschieden.

III. Analytische Belege.

I. Versuche an Kaninchen.

A. Kohlfütterung.

Das im Stoffwechsellkäfig befindliche Kaninchen wird 10 Tage lang nur mit Kohl gefüttert. Der Harn wird täglich unter Toluol gesammelt, filtriert und bis zur sirupösen Konsistenz am Wasserbad eingeengt. Hierauf wird der aus der zehntägigen Harnmenge (2645 ccm) gewonnene Sirup mit Phosphorsäure stark angesäuert und mit Äther im *Lindtschen* Apparat so lange extrahiert, bis man sich überzeugt hat, daß der Äther keine sauren Stoffe mehr aus dem Harn aufnimmt (praktisch genügt eine dreimalige Extraktion mit je 1000 ccm Äther). Die vereinigten Extrakte werden scharf von der wässerigen Schicht abgetrennt, mit sehr wenig Wasser gewaschen, über geschmolzenem Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bei Zimmertemperatur auf ein Volumen von 400 ccm gebracht = Lösung A.

Bestimmung der Gesamtazidität des Ätherextraktes.

1. 4 ccm Lösung A werden vom Äther durch Abdunstenlassen bei Zimmertemperatur befreit, der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und mit n/10 Lauge gegen Phenolphthalein titriert. Es wurden 3,6 ccm n/10 Lauge verbraucht, das sind 162,50 mg COOH für den Tag.

2. 4 ccm Lösung A; 3,6 ccm n/10 Lauge, das sind 162,00 mg COOH in der Tagesmenge.

Bestimmung der flüchtigen Säuren.

100 ccm Lösung A wurden einer Vakuumdestillation bei 45° unterworfen. Die überdestillierenden Säuren wurden in 40 ccm n/10 Lauge aufgefangen und das Destillat auf 100 ccm gebracht = Lösung B.

Bestimmung der Azidität.

5 ccm Lösung B (enthaltend 2 ccm n/10 Lauge) verbrauchen zum Zurücktitrieren der überschüssigen Lauge 1 ccm n/10 Säure. Es wurde also von den flüchtigen Säuren 1 ccm n/10 Lauge absorbiert, dies entspricht 36,00 mg COOH für den Tag.

Bestimmung der Ameisensäure.

1. 10 ccm Lösung B werden gekocht, mit überschüssiger n/10 Kaliumpermanganatlösung oxydiert, das überschüssige Kaliumpermanganat wird mit einem Überschuß von n/10 Oxalsäure und hierauf mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt. Der Überschuß der Oxalsäure wird mit n/10 Kaliumpermanganat bestimmt. Es wurden 2,021 ccm n/10 Kaliumpermanganat verbraucht, dies entspricht 11,16 mg Ameisensäure für die Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung B, 1,918 ccm n/10 KMnO_4 , das sind 10,59 mg Ameisensäure für die Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 10,88 mg Ameisensäure, entsprechend 10,65 mg COOH .

Bestimmung der Milchsäure.

Rückstand von Lösung B, gewonnen aus 100 ccm Lösung A, wird auf 100 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt = Lösung C. Die Milchsäurebestimmung erfolgt genau nach der Vorschrift von *Friedemann* und Mitarbeitern (l. c.).

1. 1 ccm Lösung C, 0,56 ccm n/100 Jod, das entspricht 10,08 mg Milchsäure und 5,04 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 1 ccm Lösung C, 0,5 ccm n/100 Jod, das sind 9,00 mg Milchsäure und 4,50 mg COOH in der Tagesmenge.

3. 1 ccm Lösung C, 0,6 ccm n/100 Jod, das sind 10,80 mg Milchsäure und 5,40 mg COOH für die Tagesmenge.

4. 1 ccm Lösung C, 0,62 ccm n/100 Jod, das sind 11,16 mg Milchsäure und 5,58 mg COOH für den Tag.

5. 1 ccm Lösung C, 0,53 ccm n/100 Jod, das sind 9,54 mg Milchsäure und 4,77 mg COOH für die Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 10,11 mg Milchsäure, entsprechend 5,05 mg COOH .

Bestimmung der Oxalsäure.

5 bis 10 ccm Lösung A werden in ein Zentrifugenrohr nach *de Waard* gebracht, vom Äther durch Abdunstenlassen befreit, der Rückstand in Wasser aufgenommen und genau, wie im theoretischen Teil beschrieben, verarbeitet.

1. 5 ccm Lösung A, 5,92 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 21,30 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, 5,98 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 21,50 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

3. 10 ccm Lösung A, 11,70 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 21,10 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

4. 10 ccm Lösung A, 11,17 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 20,10 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 20,80 mg Oxalsäure, entsprechend 20,80 mg COOH .

Bestimmung der Citronensäure.

Erfolgte genau nach Vorschrift von *Kometiani* (l. c.). 20 ccm Lösung A, 2,143 ccm n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 15,00 mg Citronensäure und 10,54 mg COOH in der Tagesmenge.

Bestimmung der Hippursäure.

Ein aliquoter Teil des Ätherextraktes wurde vom Äther durch Abdunstenlassen befreit; der Rückstand wurde einer Mikrostickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* unterworfen.

1. 5 ccm Lösung A, 2,06 ccm n/10 Säure, das sind 224 mg N, 264,00 mg Hippursäure und 72,00 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, 1,96 ccm n/10 Säure, das sind 220,00 mg N, 258,60 mg Hippursäure und 70,55 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 261,00 mg Hippursäure, entsprechend 71,27 mg COOH.

B. Rübenfütterung.

Das Kaninchen wurde 10 Tage hindurch ausschließlich mit Karotten gefüttert. Die gesamte Harnmenge betrug 3340 ccm. Die Verarbeitung erfolgte vollkommen analog wie bei der Kohlfütterung. Der Ätherextrakt wurde auf 250 ccm gebracht = Lösung A.

Gesamtazidität.

1. 2 ccm Lösung A, 3,4 ccm n/10 Lauge, das sind 191,25 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 2 ccm Lösung A, dasselbe Resultat wie bei 1.

Flüchtige Säuren.

50 ccm Lösung A, im Vakuum bei 45° destilliert. Destillat auf 200 ccm gebracht = Lösung B.

1. 20 ccm Lösung B, 1,5 ccm n/10 Lauge, das sind 33,75 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 20 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie bei 1.

Ameisensäure.

1. 20 ccm Lösung B, 0,88 ccm n/10 KMnO_4 , das sind 6,07 mg Ameisensäure, entsprechend 5,93 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 20 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie bei 1.

Milchsäure.

Der Rückstand von Lösung B, erhalten aus 50 ccm Lösung A, wird mit Wasser auf 100 ccm gebracht = Lösung C.

1. 10 ccm Lösung C, 9,05 ccm n/100 Jod, das sind 20,37 mg Milchsäure, entsprechend 10,19 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung C, 9,23 ccm n/100 Jod, das sind 20,77 mg Milchsäure, entsprechend 10,39 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 20,57 mg Milchsäure, entsprechend 10,28 mg COOH.

Oxalsäure.

Nur in Spuren nachweisbar.

Citronensäure.

1. 10 ccm Lösung A, 3,9 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 3,40 mg Citronensäure, entsprechend 2,39 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung A, 5,0 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 4,35 mg Citronensäure, entsprechend 3,02 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 3,87 mg Citronensäure, entsprechend 2,70 mg COOH.

Hippursäure.

1. 5 ccm Lösung A, 1,4 ccm n/10 Lauge, das sind 9,80 mg N, 115,50 mg Hippursäure und 30,78 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, 1,6 ccm n/10 Lauge, das sind 11,20 mg N, 132,00 mg Hippursäure und 36,00 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 123,75 mg Hippursäure, entsprechend 33,39 mg COOH.

C. Haferfütterung.

Das Kaninchen wurde 10 Tage hindurch ausschließlich mit Hafer gefüttert. Die Gesamtharmmenge betrug 490 ccm. Die Aufarbeitung war analog der schon beschriebenen. Der Ätherextrakt wurde auf 500 ccm gebracht = Lösung A.

Gesamtazidität.

1. 5 ccm Lösung A, 1,05 ccm n/10 Lauge, das sind 47,25 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, dasselbe Resultat wie zu 1.

Flüchtige Säuren.

100 ccm Lösung A wurden im Vakuum bei 45° abdestilliert. Das Destillat wurde auf 200 ccm gebracht = Lösung B.

1. 10 ccm Lösung B, 2,0 ccm n/100 Lauge, das sind 9,00 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie zu 1.

Ameisensäure.

10 ccm Lösung B, 4,45 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 6,14 mg Ameisensäure, entsprechend 6,00 mg COOH für die Tagesmenge.

Milchsäure.

Rückstand von Lösung B, gewonnen aus 100 ccm Lösung A, mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt = Lösung C.

1. 10 ccm Lösung C, 0,92 ccm n/100 Jod, das sind 2,07 mg Milchsäure, entsprechend 1,03 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung C, 0,93 ccm n/100 Jod, das sind 2,09 mg Milchsäure, entsprechend 1,04 mg COOH in der Tagesmenge.

3. 10 ccm Lösung C, 0,88 ccm n/100 Jod, das sind 1,98 mg Milchsäure, entsprechend 0,99 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 2,04 mg Milchsäure, entsprechend 1,02 mg COOH.

Oxalsäure.

1. 5 ccm Lösung A, 1,93 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 8,69 mg Oxalsäure, entsprechend 8,69 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung A, 3,75 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 8,43 mg Oxalsäure, entsprechend 8,43 mg COOH für die Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 8,56 mg Oxalsäure, entsprechend 8,56 mg COOH.

Citronensäure.

Nur in Spuren nachweisbar.

Hippursäure.

1. 20 ccm Lösung A, 1,6 ccm n/10 Säure, das sind 5,60 mg N, 66,00 mg Hippursäure und 18,00 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 20 ccm Lösung A, 1,72 ccm n/10 Säure, das sind 6,02 mg N, 70,95 mg Hippursäure und 19,35 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 68,47 mg Hippursäure, entsprechend 18,68 mg COOH.

II. Untersuchungen des Hundeharns bei reiner Fleischdiät.

Einem im Stoffwechsellkäfig befindlichen Hunde wurde 2 Tage lang ausschließlich reichliche Fleischkost gereicht. Der unter Toluol gesammelte 48-Stundenharn wurde bei schwach alkalischer Reaktion bis zur sirupösen Konsistenz eingedampft und der Sirup nach starkem Ansäuern mit Phosphorsäure dreimal je 24 Stunden mit Äther im Lindtschen Apparat extrahiert. Der Ätherextrakt wurde analog wie oben verarbeitet. Die Gesamtharnmenge betrug 700 ccm, der Ätherextrakt wurde auf 250 ccm gebracht = Lösung A.

Gesamtazidität.

1. 5 ccm Lösung A, 1,6 ccm n/10 Lauge, das sind 180,00 mg COOH für die Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, 1,4 ccm n/10 Lauge, das sind 157,50 mg COOH für die Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 168,75 mg COOH.

Flüchtige Säuren.

50 ccm Lösung A wurden im Vakuum abdestilliert. Destillat auf 100 ccm gebracht = Lösung B.

1. 5 ccm Lösung B, 3,00 ccm n/100 Lauge, das sind 67,00 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie zu 1.

Ameisensäure.

1. 10 ccm Lösung B, 1,146 ccm n/10 KMnO₄, das sind 39,54 mg Ameisensäure, entsprechend 38,68 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie zu 1.

Milchsäure.

Rückstand von Lösung B, erhalten aus 50 ccm Lösung A, auf 50 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt = Lösung C.

1. 10 ccm Lösung C, 4,76 ccm n/100 Jod, das sind 26,77 mg Milchsäure, entsprechend 13,39 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung C, 2,30 ccm n/100 Jod, das sind 25,88 mg Milchsäure, entsprechend 12,94 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 26,32 mg Milchsäure, entsprechend 13,16 mg COOH.

Oxalsäure.

1. 10 ccm Lösung A, 4,75 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 26,72 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung A, 4,31 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 24,25 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

Mittelwert: Die Tagesmenge enthält 25,48 mg Oxalsäure, entsprechend 25,48 mg COOH .

Citronensäure.

Nur in Spuren nachweisbar.

Hippursäure.

1. 10 ccm Lösung A, 4,00 ccm n/100 Säure, das sind 7,00 mg N, 82,50 mg Hippursäure und 22,50 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung A, dasselbe Resultat wie zu 1.

III. Untersuchung von normalem Menschenharn bei gemischter Kost.

Die Tagesmenge betrug 560 ccm. 460 ccm wurden nach Ansäuerung mit Phosphorsäure dreimal mit etwa dem dreifachen Überschuß an Äther je 24 Stunden extrahiert. Der Ätherextrakt wurde, wie oben beschrieben, verarbeitet. Das Volumen des Ätherextraktes betrug 250 ccm = Lösung A.

Gesamtazidität.

1. 5 ccm Lösung A, 1,4 ccm n/10 Lauge, das sind 333,49 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung A, dasselbe Resultat wie zu 1.

Flüchtige Säuren.

50 ccm Lösung A wurden im Vakuum bei 45° destilliert und das Destillat auf 25 ccm aufgefüllt = Lösung B.

1. 5 ccm Lösung B, 3,00 ccm n/100 Lauge, das sind 41,09 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 5 ccm Lösung B, dasselbe Resultat wie zu 1.

Ameisensäure.

5 ccm Lösung B, 9,00 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 37,80 mg Ameisensäure, entsprechend 36,98 mg COOH in der Tagesmenge.

Milchsäure.

Rückstand von Lösung B, erhalten aus 50 ccm Lösung A, auf 50 ccm mit destilliertem Wasser gebracht = Lösung C.

1. 10 ccm Lösung C, 5,24 ccm n/100 Jod, das sind 71,76 mg Milchsäure, entsprechend 35,88 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung C, 5,35 ccm n/100 Jod, das sind 73,29 mg Milchsäure, entsprechend 36,64 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 72,52 mg Milchsäure, entsprechend 36,26 mg COOH .

Oxalsäure.

1. 10 ccm Lösung A, 0,46 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 6,30 mg Oxalsäure in der Tagesmenge.

2. 10 ccm Lösung A, 0,54 ccm n/100 KMnO_4 , das sind 7,39 mg Oxal-
säure in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 6,84 mg Oxalsäure, entsprechend
6,84 mg COOH .

Citronensäure.

1. 20 ccm Lösung A, 4,00 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 21,28 mg
Citronensäure und 14,96 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 20 ccm Lösung A, 3,00 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 15,96 mg
Citronensäure und 11,21 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 18,62 mg Citronensäure, ent-
sprechend 13,08 mg COOH .

Hippursäure.

1. 10 ccm Lösung A, 1,8 ccm n/10 Säure, das sind 76,69 mg N,
903,80 mg Hippursäure und 246,50 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 20 ccm Lösung A, 3,9 ccm n/10 Säure, das sind 83,08 mg N, 979,10 mg
Hippursäure und 267,00 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 941,45 mg Hippursäure, ent-
sprechend 246,70 mg COOH .

Bestimmung der Citronensäure im wässrigen Harnanteil nach
Abtrennung der Ätherschicht.

1. 50 ccm Harn, 3,6 ccm n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 141,16 mg Citronen-
säure und 99,21 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 50 ccm Harn, 4,1 ccm n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 160,76 mg Citronen-
säure und 113,00 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 150,96 mg Citronensäure, ent-
sprechend 106,10 mg COOH .

Citronensäure im Ätherextrakt	18,62 mg pro Tag
„ „ wässrigen Harnanteil	150,96 „ „ „
	Summe 169,58 mg

Citronensäure in der Tagesmenge des Nativharns.

Es wurde noch ein anderer Normalharn untersucht, und zwar wurde
nur ein Bruchteil der Tagesmenge, nämlich 20 ccm von 1340 ccm Gesamt-
harn nach Ansäuern mit Phosphorsäure dreimal je 24 Stunden mit je
700 ccm Äther extrahiert. Der gewonnene Ätherextrakt wurde im Vakuum
auf ein Volumen von 150 ccm gebracht = Lösung A.

Citronensäurebestimmung.

1. 50 ccm Lösung A, 0,98 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 68,95 mg
Citronensäure und 48,48 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 60 ccm Lösung A, 1,29 ccm n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 75,76 mg
Citronensäure und 53,28 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge enthält 72,35 mg Citronensäure, ent-
sprechend 50,88 mg COOH .

Bestimmung der Citronensäure im ursprünglichen Harn.

1. 50 ccm Harn, 1,90 ccm n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 178,27 mg Citronen-
säure und 125,30 mg COOH in der Tagesmenge.

2. 50 ccm Harn, 1,70 ccm n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, das sind 159,50 mg Citronensäure und 112,10 mg COOH in der Tagesmenge.

Mittelwerte: Die Tagesmenge des Nativharns enthält 168,80 mg Citronensäure, entsprechend 118,70 mg COOH .

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß der Ernährungsart auf die Ausscheidung ätherlöslicher Säuren im Harn geprüft. Untersucht wurden Harnen nach rein vegetabilischer Kost (Kaninchenharn nach Kohl-, Rüben- und Haferfütterung), bei reiner Fleischiät (Hundeharn nach abschließlicher Fütterung mit viel Fleisch) und schließlich bei gemischter Ernährung (normaler Menschenharn).

2. In den einzelnen Ätherextrakten wurden Ameisensäure, Milchsäure, Oxalsäure, Citronensäure und Hippursäure nachgewiesen und deren Gehalt quantitativ bestimmt. Außerdem wurde die Gesamtazidität der Ätherextrakte ermittelt. Es wurden die Methoden zur Bestimmung der einzelnen Säuren genau beschrieben und die Ergebnisse in einer Tabelle zusammengefaßt.

3. Ein Einfluß der Ernährungsweise auf die Ausscheidungsgröße der einzelnen ätherlöslichen Säuren war deutlich wahrnehmbar. Bezüglich des Einflusses der vegetabilischen Nahrung ließ es sich feststellen, daß vor allem das grüne Gemüse, in unserem Falle Kohlfutter, die Ausscheidung dieser Säuren beträchtlich steigert, Haferdiät hingegen letztere ziemlich stark beeinträchtigt. So erscheint die Citronensäure nach Haferfutter lediglich in Spuren im Harn.

Reine Fleischiät führt zur Erhöhung der Ameisensäure- und Oxalsäurewerte im Harn, dagegen wird der Hippursäuregehalt des Harnes sehr herabgesetzt und die Citronensäure ist nur mehr in Spuren nachweisbar.

Bei gemischter Kost werden alle erwähnten ätherlöslichen Säuren in reichlicher Menge im Harn ausgeschieden.

4. In jedem Ätherextrakt war ein nicht bestimmbarer Säurerest zu verzeichnen. Während dieser Säurerest in fast allen untersuchten Fällen nur einen relativ geringen Bruchteil der Gesamtazidität ausmachte, war er im Kaninchenharn nach Rübenfütterung sehr beträchtlich. Welcher Natur dieser fragliche Säurerest sei, konnten wir bis jetzt nicht feststellen. Eine eigene diesbezügliche Untersuchung ist in Aussicht genommen.

Rappaport, Fr. und R. Klapholz. Eine titrimetrische Cholesterinbestimmungsmethode. I. Mitteilung: In reinen Lösungen	467
Sjollema, B. und L. Seekles. Die neuromuskuläre Reizbarkeit in Beziehung zur Biochemie der Minerale. I. Mitteilung: Der Einfluß einer Änderung des Ca/P-Verhältnisses in der Nahrung	471
Rona, P. und E. Chain. Zur Konfigurationspezifität der estersynthetisierenden Fermente	480
Warburg, Otto und Walter Christian. Über das gelbe Oxydationsferment. V.	496
Autorenverzeichnis	499

Entstehung, Erkennung und Behandlung innerer Krankheiten

Von **Dr. Ludolf Krehl**, Professor in Heidelberg

Soeben erschien der dritte (Schluß-) Band:

Band III: Die Behandlung innerer Krankheiten. X, 289 Seiten. 1933. RM 18.—; gebunden RM 20.—

Dieser dritte Teil des Werkes ist in erster Linie für die jungen Ärzte bestimmt. Ihnen will er in den großen Schwierigkeiten helfen, die der Übergang von dem Universitätsstudium zum praktischen Beruf bringt. In ihren eigensten Beruf, die Hilfe am Kranken, will er sie so einführen, daß die therapeutische Tätigkeit in einen inneren Zusammenhang mit den Anschauungen gebracht wird, die jetzt unsere allgemeine und spezielle Pathologie erfüllen. Das, was sie bisher in der Pathologie hörten und das therapeutische Handeln will er zu einem einheitlichen Ganzen vereinen. Dabei war Verfasser bemüht, in der Darstellung die positiven Tatsachen möglichst wenig hinter dem zurücktreten zu lassen, das die pathologische Biologie jetzt sagen kann. Mancherlei Beiwerk ist fortgelassen, das ebenso notwendig ist als Zwischenstufe für den wissenschaftlichen Arbeiter, der Fortschritte im einzelnen erzielen will, als unnötig für diejenigen, deren Lebensaufgabe die des Arztes ist, der das, was man zur Zeit weiß, verwendet zur Hilfe für den kranken Menschen. So ist das gewöhnlich Vorkommende der hauptsächlichste Vorwurf des Buches geworden, das Seltenerer mußte zunächst fortgelassen werden. Es ist aber des Verfassers Überzeugung, daß jungen werdenden Ärzten namentlich von Einzelheiten jetzt nicht mehr aufgeladen werden darf, als sie zur idealen Durchführung ihres Berufes unbedingt brauchen, daß sie vor allem feste Grundsätze und Überzeugungen gewinnen müssen. Sonst wird in ihnen unterdrückt, was dem Arzt in erster Linie notwendig ist: der Zusammenhang mit der gesamten Wissenschaft, namentlich der Naturforschung, und die geistige Freiheit.

Früher erschienen:

Band I: Die Entstehung innerer Krankheiten. Pathologische Physiologie. Vierzehnte Auflage. XII, 716 Seiten. 1932. RM 39.60; gebunden RM 42.—

... Das Krehlsche Buch gehört in die Hand jedes Arztes. Wer nicht nur in den Sorgen der täglichen Praxis aufgeht, sondern sich noch Sinn für wissenschaftliches Denken bewahrt hat, der wird es immer als einen ganz besonderen Genuß betrachten, wieder einmal ein Kapitel aus der „Pathologischen Physiologie“ durchzulesen. Die souveräne Beherrschung des ganzen großen Gebietes, die offene, ehrliche, kritische Betrachtungsweise, die fabelhafte Literaturkenntnis und die flüssige, gewandte Diktion des Autors — alles das zwingt uns zur Bewunderung . . .

„Zeitschrift für die gesamte physikalische Therapie.“

Band II: Die Erkennung innerer Krankheiten. Zweite Auflage. X, 197 Seiten. 1932. RM 12.80; gebunden RM 14.80

Das erstaunliche Werk eines fast 70jährigen, der aber versteht, jugendlichen Forscherdrang mit Erfahrungsweisheit des Alters zu kombinieren! Der große Reichtum des Inhalts ist erkenntlich durch die Kapitelüberschriften . . .

„Schweizerische Medizinische Wochenschrift.“

VERLAG VON F. C. W. VOGEL IN BERLIN

Biochemisches Handlexikon

Herausgegeben von

Prof. **Emil Abderhalden**

Geheimer Medizinalrat, Dr. med. et phil. h. c., Direktor
des Physiologischen Instituts der Universität Halle a. d. S.

Soeben erschien:

Band XIV (7. Ergänzungsband)

**Proteine. — Pyrrolderivate. — Tierische
Farbstoffe und synthetische Porphyrine. — Gallenfarbstoffe. — Sterine. — Nu-
cleinsäuren, Nucleotide, Nucleoside.**

Bearbeitet von L. W. Bass, New York,
O. Dalmer, Darmstadt, W. Kröner, Zürich,
P. A. Leve'ne, New York, H. Maurer, Stuttgart.
IV, 963 Seiten 1933.

RM 123.—; gebunden RM 126.—

Neben den Ergebnissen der rein chemischen und physikalisch-chemischen Forschung sind besonders sorgsam die physiologischen Eigenschaften der einzelnen Verbindungen berücksichtigt. Es stellt so das Werk einen unentbehrlichen Führer für jeden dar, der sich über den Stand der Forschung auf den einzelnen Gebieten der physiologischen Chemie zu unterrichten wünscht. Die Literatur ist bis zum Herbst 1932 berücksichtigt. Der vorliegende Band umfaßt besonders wichtige Gebiete, handelt es sich doch bei den behandelten Stoffen durchweg um solche, die im Mittelpunkt des Interesses stehen. Eiweißchemie und -physiologie sind in den letzten Jahren ganz wesentlich ausgebaut worden, das gleiche gilt von allen jenen Verbindungen, die Beziehungen zur Farbstoffkomponente des Blutfarbstoffes und zum Gallenfarbstoff haben. Von ganz besonderer Bedeutung ist die Erforschung der Steringruppe in Hinsicht auf Vitamin D und Sexualhormone und darüber hinaus in Anbetracht von Beziehungen zu den Gallensäuren. Endlich haben auch die Nucleinsäuren in neuester Zeit eine ganz ungeahnte Bedeutung in physiologischer Hinsicht erlangt.

Verlag von Julius Springer in Berlin

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, E. Auel-Paris, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Belgrad, Fr. Boas-München, J. Bodnár-Debreczen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch Moskau, M. Cremer-München, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, M. Ferreira de Mira-Lissabon, S. Flexner-New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-London, E. Friedmann-Moskau, Cl. Fromageot-Lyon, O. Fürth-Wien, M. Hahn-Berlin, E. Hammarsten-Stockholm, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Stockholm, V. Henri-Lüttich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Berlin, R. Höber-London, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Biga, F. Landolf-Buenos Aires, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Genf, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, W. Nernst-Berlin, K. Noack-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Paris, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzar-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg und **W. Grassmann**

Berlin-Dahlem

München

Sonderabdruck aus 269. Band, 4.— 6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Fritz Haas:

Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung
des Carnosins in biologischen Flüssigkeiten



Berlin

Verlag von Julius Springer



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an die Herausgeber:

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hiltorfstraße 18, oder
Herrn Prof. Dr. W. Grassmann, München 55, Würmtalstraße 8,

zu richten.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Autoren erhalten eine *Fahnenkorrektur*. Revisionen können nur ausnahmsweise verabfolgt werden und verursachen oft eine Zurückstellung der Mitteilung. Auf Wunsch der in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeiter wird die Korrektur ihrer Abhandlung hier gelesen, wodurch ein beschleunigtes Erscheinen ermöglicht wird.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von RM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle RM 30.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Von Arbeiten bis zum Umfange von 24 Druckseiten werden 50 Sonderdrucke, von längeren Arbeiten 30 Sonderdrucke gratis geliefert. Weitere 50 bzw. 30 Sonderdrucke werden zu den bisherigen billigen Preisen geliefert. Der Bezug von Sonderdrucken in noch größerer Zahl ist unerwünscht, weil deren Versendung den Absatz der Zeitschrift beeinträchtigt. Die Berechnung solcher Extrasonderdrucke erfolgt zu den Bogenpreisen des betreffenden Heftes.

Dissertationsexemplare werden von der Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht geliefert.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

269. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Kurt P. Jacobsohn und João Tapadinhas. Über das Gleichgewicht im System der Fumarase	225
Shigehiro Katsura, Tatsuo Hatakeyama und Kichiro Tajima. Eine titrimetrische Bestimmungsmethode für kleine Mengen Phosphatide, freies Cholesterin, Cholesterinester, Neutralfette und Gesamtlipoide des Blutes, des Blutplasmas und der Blutkörperchen	231
Joachim Schubert. Über dynamische Wirkungen von Aminosäuren auf einzelne Organfunktionen und den Lungengaswechsel beim Menschen	241
Regine Kapeller-Adler, Edith Lauda und Koloman von Mègay. Zur Frage der Purinsynthese im Säugetierorganismus	254
Regine Kapeller-Adler und Fritz Haas. Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Carnosins in biologischen Flüssigkeiten	263
Margrethe Sørensen. Über den Kohlenhydratgehalt der Proteine des Hühnereiweißes	271
Heinz Holter und Bent Andersen. Vergleich der Pepsin- und Labaktivität verschiedener Magensekrete	285
Elin Edwards Fog. Die Veränderungen des kolorimetrischen Index, Volumenindex und Saturationsindex bei Kupferbehandlung der experimentellen Milchanämie	301
Einar Lundsgaard. Phosphagen- und Pyrophosphatumsatz in jodessigsäurevergifteten Muskeln	308
Carsten Olsen. Über die Manganaufnahme der Pflanzen	329
Sören L. Ørskov. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Kohlensäure auf die Permeabilität der Ammoniumsalze	349

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Pikrolonat gravimetrisch ermittelt wird. Was nun die Wertigkeit dieser einzelnen Carnosinbestimmungsmethoden betrifft, so ist nach *Kuen* den gravimetrischen Verfahren vor den kolorimetrischen unbedingt der Vorzug zu geben. Die kolorimetrisch ermittelten Werte fallen zu hoch aus, weil neben dem Carnosin auch noch andere Stoffe erfaßt werden, und zwar gilt das sowohl für die Bestimmung des Carnosins als Kupfersalz, als insbesondere für das diazokolorimetrische Verfahren nach *Kössler* und *Hanke*. So gibt *Hunter* an, daß die Purine bis zu 3% die Bildung des Diazofarbstoffs mitbedingen.

Das Fehlen einer rasch arbeitenden, verläßlichen kolorimetrischen Methode zur Bestimmung des Carnosins gab die unmittelbare Veranlassung zur Inangriffnahme der zu beschreibenden Untersuchungen.

Vor kurzem hat die eine von uns¹ eine neue kolorimetrische Mikromethode zur quantitativen Histidinbestimmung in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten ausgearbeitet. Dieses Verfahren, welches eine von *Knoop*² für das Histidin angegebene Reaktion zur Grundlage hat, beruht darauf, daß das Histidin mit einer entsprechend hergestellten Bromessigsäurelösung vorsichtig in Reaktion gebracht, hierauf mit einem bereitgehaltenen Ammoniak-Ammoncarbonatgemisch versetzt und, in einem heißen Wasserbad erwärmt, eine tief bläuliche Färbung liefert. Beim Erkalten erreicht die Farbintensität ihr Maximum. Diese Reaktion, deren Empfindlichkeit 1:50000 beträgt, zeichnet sich vor allem durch ihre unbedingte Spezifität für das Histidin aus. Das Zustandekommen dieser Umsetzung ist an das Vorhandensein eines intakten Alaninrestes geknüpft, so zeigen weder die Imidazolpropionsäure noch die Imidazolmilchsäure, noch die Imidazolessigsäure diese Reaktion. Nicht einmal das Carnosin, das β -Alanylderivat des Histidins, liefert ein positives Ergebnis. Gerade diese Tatsache wurde von grundlegender Bedeutung für die später zu schildernde Bestimmung von Carnosin neben Histidin in biologischen Flüssigkeiten.

II. Methodik der Carnosinbestimmung in Muskelauszügen, welche kein freies Histidin enthalten (Säugetiermuskeln).

100 bis 150 g frischen, von Fett und Bindegewebe möglichst befreiten Muskels werden in der Fleischhackmaschine fein zerkleinert und mit Wasser bei 70° extrahiert. Der Auszug wird abfiltriert und der Rückstand nochmals, wie beschrieben, ausgezogen. Diese Prozedur wird im ganzen dreimal wiederholt. Die vereinigten Auszüge werden mit 10%iger Essigsäure bei 70° koaguliert, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat am Wasserbad auf ein sehr kleines Volumen eingengt. In einem aliquoten Teil dieses auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Auszugs wird eine Mikro-*Kjeldahl*-Bestimmung durchgeführt.

¹ *R. Kapeller-Adler*, diese Zeitschr. **264**, 131, 1933. — ² Hofmeisters Beitr. **11**, 356, 1908.

Ein größerer aliquoter Teil dieses Extrakts wird nun einer Hydrolyse nach *Broude*¹ unterworfen, wobei sämtliches im Extrakt vorhandenes Carnosin in Histidin umgewandelt wird. Entsprechend den Angaben *Broudes* wird Carnosin nach fünfständigem Erhitzen mit 13%iger Schwefelsäure gänzlich zu Histidin hydrolysiert. Dieses aus dem Carnosin des Muskelextrakts abgespaltene Histidin wird nun, wie folgt, quantitativ ermittelt. Das nach der Vorschrift *Broudes* hergestellte Hydrolysat wird zur Entfernung der Hauptmenge der Schwefelsäure mit Bariumcarbonat versetzt, der Bariumsulfatniederschlag nach dem Absetzen abgenutscht und der Rückstand zwecks möglicher Vermeidung von Verlusten öfters mit Wasser ausgekocht. Die mit dem Hauptfiltrat vereinigten Auszüge wurden auf ein kleines Volumen eingengt (Lösung A). In einem aliquoten Teil dieser Lösung wird ihr nunmehriger Stickstoffgehalt mittels *Mikro-Kjeldahl*-Bestimmung ermittelt und so die durch die Aufarbeitung des Hydrolysats bedingte Verlustgröße in Rechnung gesetzt.

Bevor das dem Carnosin entstammende Histidin der eigentlichen Bestimmung zugeführt wird, soll es zweckmäßig isoliert werden. Ein größerer aliquoter Teil der Lösung A wird deswegen auf dem Wasserbad auf ein sehr kleines Volumen eingengt, der Rückstand in einen *Erlenmeyer*-Kolben mit sehr wenig Wasser hinübergespült und mit 96%igem Alkohol bis zur beginnenden Trübung der Lösung versetzt. Hierauf wird ein Drittel des verbrauchten Alkoholvolumens an Äther hinzugefügt. Nun wird die Lösung mit überschüssigem *Hopkinsschem* Reagens (10%ige Auflösung von Mercurisulfat in 5%iger Schwefelsäure) gefällt. Der gebildete Niederschlag wird 24 Stunden stengelassen, dann abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Das so gewonnene Pulver wird in heißer, verdünnter Salzsäure aufgelöst und das Filtrat mittels Schwefelwasserstoffs entquecksilbert. Nach dem Abfiltrieren des Mercurisulfids wird die Lösung am Wasserbad nach Neutralisation der Salzsäure eingengt und der Rückstand in einer bestimmten Menge verdünnter Schwefelsäure (10 ccm) aufgenommen. Die so gewonnene Lösung B bildet das Ausgangsmaterial für die kolorimetrische Histidinbestimmung. Diese erfolgt genau nach der seinerzeit von der einen von uns beschriebenen Methode. Der ermittelte Histidinwert wird entsprechend auf Carnosin umgerechnet. Mittels dieser Methode erhielten wir bei den einzelnen untersuchten Muskelarten folgende Carnosinwerte:

100 g frischen Muskels enthalten Carnosin in Grammen.

Art des untersuchten Muskels		Literaturwerte:
Pferd	{ 0,328 } { 0,320 } 0,324	0,18 <i>Smorodinzew</i> * } (präparativ) 0,26—0,48 <i>Kuen</i> ** }
Rind	{ 0,237 } { 0,239 } 0,238	0,26 <i>Smorodinzew</i> † } (präparativ) 0,32—0,36 <i>Kuen</i> ** }
Schwein	0,304	0,29 <i>Smorodinzew</i> †† (präparativ)

* Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 20, 1913. — ** l. c. — † Zeitschr. f. physiol. Chem. 92, 214, 1914. — †† Ebenda 123, 116, 1922.

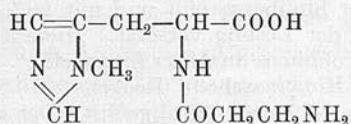
¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 158, 19, 1926.

Die für den Pferdemuskel von uns ermittelten Carnosinwerte gehören derselben Größenordnung wie die von *Kuen* angegebenen diesbezüglichen Zahlen an. *Smorodinzew* führt einen viel niedrigeren Carnosinwert für den Pferdemuskel an. Hingegen stimmen unsere, bei der Untersuchung von Rinds- und Schweinemuskel gewonnenen Carnosinwerte sehr gut mit den entsprechenden Angaben von *Smorodinzew* überein.

III. Untersuchung von Vogelmuskulatur.

Bestimmung von Anserin neben Carnosin.

Ackermann und seine Mitarbeiter¹ haben aus der Gänsemuskulatur ein Imidazolderivat darzustellen vermocht, welches sie Anserin nannten, und welches ihrer Konstitutionsermittlung² nach ein im Imidazolkern methyliertes Carnosin darstellt.



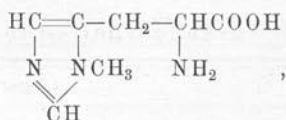
Was seine chemischen Eigenschaften anlangt, so unterscheidet sich dieser Stoff vom Carnosin vor allem dadurch, daß er die für alle Imidazolderivate charakteristische *Pauly'sche* Diazoreaktion nicht gibt.

Angaben von *Clifford*³, von *Toltschewskaia*⁴ und von *Keil*, *Linneweh* und Mitarbeitern⁵ stimmen darin vollkommen überein, daß das Carnosin fast bei allen Wirbeltieren vorkommt. Es fehlt bei manchen Fischen, wie bei Anacanthinen und bei Avertebraten, weiter bei Finken und Eulen. Das Anserin kommt vornehmlich in der Vogelmuskulatur vor und soll nach Angaben von *Keil*⁶ bei Säugetieren fehlen. Dieser Ansicht können sich *Wolff* und *Wilson*⁷ nicht anschließen, weil es ihnen gelungen ist, aus der Muskulatur von Hund und Katze Anserin zu isolieren.

Da also Carnosin und Anserin öfters vergesellschaftet in der Muskulatur auftreten, legten wir uns die Frage vor, ob eine Möglichkeit der gleichzeitigen Bestimmung beider Stoffe gegeben wäre. Das Anserin selbst liefert keinerlei charakteristische Farben-

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 183, 1, 1929. — ² Ebenda 187, 1, 1929; 189, 80, 1930. — ³ Biochem. J. 15, 725, 1921. — ⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 185, 28, 1929. — ⁵ Zeitschr. f. Biol. 86, 187, 1927. — ⁶ Zeitschr. f. physiol. Chem. 187, 1, 1929. — ⁷ J. of biol. Chem. 95, 495, 1930.

reaktionen. Bei der Hydrolyse entsteht aus dem Anserin das *Methylhistidin*



welches zum Unterschied vom Histidin keine positive *Pauly*sche Diazoreaktion zeigt. Hingegen fällt nach Angaben *Linnewehs*¹ die *Knoopsche* Bromprobe mit Methylhistidin positiv aus. In der schon oben erwähnten Arbeit² konnte an einem von Herrn Prof. *Ackermann* uns freundlichst zur Verfügung gestellten Präparat gezeigt werden, daß das Methylhistidin als einziges der untersuchten Histidinderivate die Reaktion mit Bromessigsäure und dem Ammoniak-Ammoncarbonatgemisch zeigt. Allerdings betrug die Färbekraft des hierbei entstehenden Farbstoffs nur ein Fünftel derjenigen des Histidins.

Auf Grund dieser Feststellungen konnte an die Ausarbeitung einer Methode zur gleichzeitigen Bestimmung von Carnosin und Anserin geschritten werden.

Aus 150 g Hühnermuskulatur wurde nach der oben gegebenen Vorschrift ein Auszug hergestellt. Die Untersuchung eines aliquoten Teiles dieses Extraktes ergab eine positive *Pauly*sche Diazoreaktion, was für ein Vorhandensein von Carnosin in diesem Muskelauszug spricht. Ein größerer aliquoter Teil des Extraktes wurde einer Hydrolyse nach *Broude* (l. c.) unterworfen und das Hydrolysat, wie oben geschildert, aufgearbeitet. Ein kleiner Teil der schließlich erhaltenen Lösung wurde der Bromessigsäurereaktion unterworfen, welche stark positiv ausfiel. Diese Reaktion war anscheinend bedingt durch das aus dem Carnosin entstandene Histidin und das dem Anserin entstammende Methylhistidin. Die Bestimmung beider Stoffe wurde nun wie folgt vorgenommen: Den Histidingehalt ermittelten wir in einem aliquoten Teil des Hydrolysats nach der Diazomethode von *Weiss* und *Ssbolew*³ in der von *O. Fürth* und *E. H. Majer*⁴ verbesserten Form. In einem anderen Teil des Hydrolysats wurde die kolorimetrische Bestimmung nach *Kapeller-Adler* durchgeführt. Diese Reaktion wurde direkt in der ursprünglichen Lösung ohne vorhergehende Isolierung der *Hopkins*schen Fraktion angestellt. Die Farbe der Reaktionslösung wurde gegen eine Histidinstandardlösung verglichen. Die erhaltenen Werte stellen die Summe aus Histidin und Methylhistidin dar. Subtrahiert man von dieser Summe den bei der Bestimmung nach *Weiss* und *Ssbolew* gewonnenen Histidinwert und multipliziert den verbleibenden Rest mit 5, so bekommt man den Methylhistidinwert. Die auf diese Weise für das

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 183, 11, 1929. — ² *Kapeller-Adler*, diese Zeitschr. 264, 131, 1933. — ³ Diese Zeitschr. 58, 119, 1914. — ⁴ Ebenda 264, 142, 1933.

Histidin und Methylhistidin gewonnenen Zahlen werden auf Carnosin und Anserin umgerechnet. Nachfolgend bringen wir die erzielten Resultate.

100 g Hühnermuskel enthalten in Grammen:

		Literaturangaben
Carnosin	0,123	<i>th. Hoppe-Seyler</i> *; 0,17 zit. nach <i>Guggenheim</i> **
Anserin	0,419	0,12 (präparativ) <i>Ackermann</i> ***

* Zeitschr. f. physiol. Chem. 184, 276, 1929. — ** Biogene Amine, 2. Aufl., 1924, S. 211. — *** Zeitschr. f. physiol. Chem. 183, 1, 1929.

Was den Carnosinwert anlangt, so vermutet *Hoppe-Seyler* auf Grund des positiven Ausfalls der *Paulyschen* Diazoreaktion, daß auch in der Vogelmuskulatur Carnosin enthalten sei. Er weist auf die Schwierigkeit der Isolierung des Carnosins neben Anserin aus der Vogelmuskulatur hin. Der von *Guggenheim* zitierte Wert gehört derselben Größenordnung an wie der von uns ermittelte.

Der von uns bestimmte Anserinwert ist viel höher als der von *Ackermann* angeführte. Allerdings handelt es sich beim letzteren um eine auf präparativem Wege gewonnene Zahl, bei der man immerhin mit Verlusten rechnen muß. Doch möchten wir den von uns ermittelten Anserinwert keineswegs als definitiv betrachten. Es wäre vielmehr dringend notwendig, denselben an der Hand von Anserinpräparaten verschiedener Herkunft zu kontrollieren.

IV. Untersuchung von Fischmuskel (Karpfenmuskel).

Bestimmung von Carnosin neben freiem Histidin.

Aus 125 g Karpfenmuskeln wurde nach obiger Vorschrift ein Extrakt hergestellt. Bei der näheren Untersuchung dieses Auszugs zeigte es sich, daß er eine positive Bromessigsäurereaktion zeigte, daß er also präformiertes Histidin enthalte. Nun wurde in einem aliquoten Teil des Karpfenmuskelauszugs das Histidin mittels *Hopkinschen* Reagens isoliert, diese Fraktion, wie oben beschrieben, zerlegt, und in der resultierenden Lösung das Histidin kolorimetrisch nach *Kapeller-Adler* bestimmt. Ein anderer aliquoter Teil des Karpfenextraktes wurde einer Hydrolyse nach *Broude* unterworfen, das Hydrolysat entsprechend aufgearbeitet und die nach der Zerlegung des *Hopkinschen* Niederschlags erhaltene Lösung wiederum der kolorimetrischen Histidinbestimmung zugeführt. Da der so erhaltene Histidinwert viel höher ist als der vor der Hydrolyse ermittelte, muß der Karpfenmuskel außer dem vorgebildeten Histidin noch Carnosin enthalten, und die nach der Hydrolyse gewonnene Histidinzahl stellt somit die Summe aus dem präformierten Histidin und dem aus Carnosin bei der Hydrolyse entstehenden Histidin dar. Zieht man also von dieser Summe den vor der Hydrolyse erhaltenen Histidinwert ab und rechnet den verbleibenden Rest entsprechend um, so bekommt man den Carnosinwert.

Folgende Werte wurden nach dieser Methode bei der Untersuchung von Karpfenmuskeln erhalten.

100 g Karpfenmuskel enthalten in Grammen:

		Literaturangaben
Präformiertes Histidin	0,096	Bonito . . . 0,17 Maguro (Thunfisch) 0,47 Lachs . . . + Flußaal . . . —
	0,081	
	} 0,088	
Carnosin	0,059	Bonito . . . —
		Maguro . . . 0,200
		Lachs . . . 0,055
		Flußaal . . . 0,067
		Goldfisch . . 0,11
	Hering . . . 0,16	zit. nach <i>Guggenheim</i> (l. c.)

* Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 1, 1909.

Suzuki hat also beim Bonito und Maguro (Thunfisch) ebenfalls Histidin präformiert vorgefunden. Der von uns für den Karpfenmuskel ermittelte Carnosinwert stimmt gut mit *Suzukis* diesbezüglichen Angaben für den Lachs und Flußaal überein. Wir waren nicht in der Lage, frischen Seefischmuskel zu untersuchen. In der Marktware (Kabeljaumuskel) konnten wir weder vorgebildetes Histidin noch Carnosin noch Anserin¹ nachweisen, was vermutlich mit Zersetzungsvorgängen zusammenhängen dürfte.

Zusammenfassung.

1. Es wurde eine neue *Carnosinbestimmungsmethode* angegeben, welche darauf beruht, daß Carnosin zunächst zu Histidin hydrolysiert, als solches nach der von *Kapeller-Adler* angegebenen kolorimetrischen Methode zur Bestimmung gelangt. Die auf diesem Wege erhaltenen Carnosinwerte fallen, im Gegensatz zu den bisherigen, kolorimetrisch ermittelten Carnosinzahlen etwas niedriger aus, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß die genannte Methode für Histidin und somit auch für das Carnosin spezifisch ist.

2. Mittels dieses Verfahrens wurde *Rinds-, Pferde- und Schweine-muskel* untersucht. Für den *Rindsmuskel* ergaben sich 0,238%,

¹ Vgl. *Ackermann*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 197, 135, 1931.

für den *Pferdemuskel* 0,324% und für den *Schweinemuskel* 0,304% *Carnosin*.

3. Es wird weiter eine Methode zur *Bestimmung von Carnosin neben Anserin* angeführt. Das *Carnosin* wird, zu *Histidin* hydrolysiert, nach der Diazomethode von *Weiss* und *Ssobolew* ermittelt, das *Anserin* gelangt nach der Hydrolyse als *Methylhistidin* neben dem aus dem *Carnosin* stammenden *Histidin* kolorimetrisch nach *Kapeller-Adler* zur Bestimmung. Nach dieser Methode untersuchtes *Hühnerfleisch* enthielt 0,12% *Carnosin* und 0,421% *Anserin*.

4. Schließlich wurde *Karpfenmuskel* untersucht. Dieser enthielt neben *Carnosin* präformiertes *Histidin*. Gleichzeitig wurde eine Methode zur Bestimmung von beiden Stoffen nebeneinander angegeben. Im *Karpfenmuskel* wurden 0,088% vorgebildetes *Histidin* und 0,059% *Carnosin* bestimmt.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Akiji Fujita und Takeshi Kodama. Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. I. Mitteilung: Bestimmung der Stoffwechselquotienten pathogener Bakterien	367
A. W. Blagowestschenski und T. A. Schubert. Bestimmung einiger Aminosäuren im Globulin der Sonnenblumensamen	375
Otto Fürth, Harald Minnebeck und Emil Edel (unter Mitwirkung von Eduard H. Majer und Herbert Reisner). Die Rolle der Citronensäure im Kohlenhydratstoffwechsel	379
Regine Kapeller-Adler und Anita Luisada. Über Extraktivstoffe der Leber	397
E. Werle. Zur Kenntnis des Haushalts des Kallikreins	415
E. Werle und P. Eckey. Vergleichende Untersuchung über Kallikrein- und Trypsinkonzentration im menschlichen Duodenalsaft	435
Maria Kobel und Carl Neuberg. Zur Frage des Auftretens von Triose beim desmolytischen Hexosenabbau	441
Hans Gaffron. Über die Kohlensäure-Assimilation der roten Schwefelbakterien. I.	447

Fortschritte der Botanik

Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen herausgegeben von
Fritz von Wettstein, Professor an der Universität München.

Erster Band: Bericht über das Jahr 1931.

Mit 16 Abbildungen. VI, 263 Seiten. 1932. RM 18.80

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte:** Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmscher, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Der Wasserumsatz in der Pflanze. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Stoffwechsel I. Allgemeiner Stoffwechsel. Von Professor Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Stoffwechsel II. Heterotrophe und Spezialisten. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung:** Wachstum und Bewegungserscheinungen. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. — Entwicklungsphysiologie. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von W. Schwarz, Darmstadt.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

Zweiter Band: Bericht über das Jahr 1932.

Mit 37 Abbildungen. IV, 302 Seiten. 1933. RM 24.—

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte:** Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmscher, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Mineralstoffwechsel. Von Privatdozent Dr. K. Pirschele, München. — Stoffwechsel organischer Verbindungen. Von Privatdozent Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Mikrobiologie des Bodens. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung:** Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. — Entwicklungsphysiologie. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von A. Köckemann, Freiburg i. Br.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Sachverzeichnis. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Chemie der organischen Farbstoffe

Von **Professor Dr. Fritz Mayer**

Soeben erschien in dritter, umgearbeiteter Auflage:

Erster Band: Künstliche organische Farbstoffe.

Mit 5 Abbildungen. IV, 255 Seiten. 1934. RM 23.60; gebunden RM 24.80

Das bekannte Werk erscheint in völlig neubearbeiteter Form in dritter Auflage in zwei Bänden. Der erste Band enthält nur noch die künstlichen organischen Farbstoffe, während die natürlichen Farbstoffe in einer etwas breiteren und vor allem lückenlosen Darstellung in dem zweiten übers Jahr erscheinenden Band zusammengefaßt werden. In den 10 Jahren seit Erscheinen der letzten Auflage war der Fortschritt der Wissenschaft und Technik groß. Dementsprechend konnten in dem Abschnitt Azofarbstoffe die Chromierfarbstoffe, die Pigmentfarbstoffe und die Naphthol-AS-Farbstoffe stärker berücksichtigt werden. Bei den Cyaninfarbstoffen für photographische Zwecke ließ sich auf Grund der zahlreichen die Konstitution der Farbstoffe betreffenden Arbeiten eine umfassende Darstellung des interessanten Gebietes geben. Die wertvollen Arbeiten über die Konstitution der Schwefelfarbstoffe sind in vollem Umfange berücksichtigt worden. Endlich ist der Abschnitt über Anthrachinonfarbstoffe von Grund auf umgestaltet worden. Er enthält u. a. erstmals die Theorie des Reaktionsmechanismus der Bohn-Schmidtschen Reaktion und ferner eine erschöpfende Übersicht über die Küpenfarbstoffe.

Chemiker-Kalender 1934. Ein Hilfsbuch für Chemiker, Physiker, Mineralogen, Hüttenmänner, Industrielle, Mediziner und Pharmazeuten. Begründet von Dr. Rudolf Biedermann. Fortgeführt von Professor Dr. W. A. Roth. Herausgegeben von Professor Dr. **I. Koppel**. 55. Jahrgang. 1934. Drei Teile in zwei Bänden gebunden RM 20.—

Erster Teil: Taschenbuch. VIII, 56 Seiten und 119 Seiten.

Zweiter Teil: Dichten. Löslichkeiten. Analyse. Mit zahlreichen Figuren im Text. IV, 737 Seiten.

Dritter Teil: Theoretischer Teil. Mit zahlreichen Figuren und 1 Tafel. VI, 622 Seiten.

Die bewährte Gliederung des Kalenders in drei Teile, die in zwei Ganzleinenbände gebunden sind, ist auch für das Jahr 1934 beibehalten worden. Verbesserungen und Ergänzungen haben den Kalender wieder auf den neuesten Stand gebracht, so daß er für den Praktiker wie für den Wissenschaftler das bewährte ausgezeichnete Auskunftsmittel bleibt, das ein schnelles, zuverlässiges und kritisches Arbeiten ermöglicht. Der Kalender bildet durch seine umfangreichen Tabellen aus allen Gebieten chemischer Forschung, durch seine Arbeitsvorschriften (besonders auch für analytische und technisch-chemische Untersuchungen) sowie durch seine theoretischen Erläuterungen ein vorzügliches, nie versagendes Nachschlagewerk. Mit bemerkenswerter Umsicht hat der Herausgeber nicht nur den Inhalt des Kalenders modernisiert, sondern ihn wieder durch bisher noch nicht berücksichtigte Gebiete erweitert, u. a.: Korrosion der Metalle — Toxikologisch-chemische Untersuchungen — Bildungswärmen organischer Stoffe — Röntgenstrahlenbeugung in Molekeln und Kristallen — Schmelzen, Erstarren, Verdampfen, Sieden — Metallographie — Geochemie — Chemische Industrie Japans — Sprengstoffe und Zündmittel. Vollständig neu bearbeitet wurde der Abschnitt Spektralanalyse. Von älteren Abschnitten, die 1933 vorübergehend gefehlt haben, wurden wieder aufgenommen: Keramik — Ätherische Öle — Zucker.

Verlag von Julius Springer in Berlin

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, E. Aubel-Paris, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Belgrad, Fr. Boas-München, J. Bodrár-Debreczen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch Moskau, M. Cremer-München, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, M. Ferreira de Mira-Lissabon, S. Flexner New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-London, E. Friedmann-Moskau, Cl. Fromageot-Lyon, O. Fürth-Wien, M. Hahn Berlin, E. Hammarsten Stockholm, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund Stockholm, V. Henri-Lüttich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Berlin, R. Höber-London, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie-Dundee, J. Meisenheimer-Tübingen, Kurt H. Meyer-Genf, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, W. Nernst-Berlin, K. Noack-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson-Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Paris, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzár-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg und W. Grassmann

Berlin-Dahlem

München

Sonderabdruck aus 269. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler, Edith Lauda und Koloman von Mégay:
Zur Frage der Purinsynthese im Säugetierorganismus



Berlin

Verlag von Julius Springer

1934



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1\frac{1}{2}$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an die Herausgeber:

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hiltorfstraße 18, oder
Herrn Prof. Dr. W. Grassmann, München 55, Würmtalstraße 8,

zu richten.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Autoren erhalten eine *Fahnenkorrektur*. Revisionen können nur ausnahmsweise verabfolgt werden und verursachen oft eine Zurückstellung der Mitteilung. Auf Wunsch der in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeiter wird die Korrektur ihrer Abhandlung hier gelesen, wodurch ein beschleunigtes Erscheinen ermöglicht wird.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von RM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle RM 30.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Von Arbeiten bis zum Umfange von 24 Druckseiten werden 50 Sonderdrucke, von längeren Arbeiten 30 Sonderdrucke gratis geliefert. Weitere 50 bzw. 30 Sonderdrucke werden zu den bisherigen billigen Preisen geliefert. Der Bezug von Sonderdrucken in noch größerer Zahl ist unerwünscht, weil deren Versendung den Absatz der Zeitschrift beeinträchtigt. Die Berechnung solcher Extrasonderdrucke erfolgt zu den Bogenpreisen des betreffenden Heftes.

Dissertationsexemplare werden von der Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht geliefert.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

269. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Kurt P. Jacobsohn und João Tapadinhas. Über das Gleichgewicht im System der Fumarase	225
Shigehiro Katsura, Tatsuo Hatakeyama und Kichiro Tajima. Eine titrimetrische Bestimmungsmethode für kleine Mengen Phosphatide, freies Cholesterin, Cholesterinester, Neutralfette und Gesamtlipoide des Blutes, des Blutplasmas und der Blutkörperchen	231
Joachim Schubert. Über dynamische Wirkungen von Aminosäuren auf einzelne Organfunktionen und den Lungengaswechsel beim Menschen	241
Regine Kapeller-Adler, Edith Lauda und Koloman von Mégay. Zur Frage der Purinsynthese im Säugetierorganismus	254
Regine Kapeller-Adler und Fritz Haas. Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Carnosins in biologischen Flüssigkeiten	263
Margrethe Sörensen. Über den Kohlenhydratgehalt der Proteine des Hühnereiweißes	271
Heinz Holter und Bent Andersen. Vergleich der Pepsin- und Labaktivität verschiedener Magensekrete	285
Elin Edwards Fog. Die Veränderungen des kolorimetrischen Index, Volumenindex und Saturationsindex bei Kupferbehandlung der experimentellen Milchanämie	301
Einar Lundsgaard. Phosphagen- und Pyrophosphatumsatz in jodessigsäurevergifteten Muskeln	308
Carsten Olsen. Über die Manganaufnahme der Pflanzen	329
Sören L. Ørskov. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Kohlensäure auf die Permeabilität der Ammoniumsalze	349

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Zur Frage der Purinsynthese im Säugetierorganismus.

Von

Regine Kapeller-Adler, Edith Lauda und Koloman von Mégay.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien.)

(Eingegangen am 12. Februar 1934.)

I.

Die Frage nach der Purinneubildung im Säugetierorganismus gehört wohl zu den umstrittensten Problemen auf dem Gebiete des Purinstoffwechsels. Bevor wir jedoch auf die Diskussion der in der Literatur angeführten Arbeiten bezüglich der Möglichkeit einer synthetischen Purinbildung im Säugetierorganismus näher eingehen, müssen wir vor allem auf die bekannte Tatsache hinweisen, daß der Ablauf des Purinstoffwechsels beim Säugetier ein ganz anderer ist als derjenige beim Menschen. Während nämlich der Purinstoffwechsel des Säugetieres in seinen Hauptphasen bereits geklärt ist, sind die diesbezüglichen Verhältnisse beim Menschen noch nicht eindeutig erforscht¹. Nach den in der Literatur vorliegenden Arbeiten¹ kann als erwiesen angenommen werden, daß beim *Säugetier* die Umsetzung der Purinbasen quantitativ erfolgt und daß man sie sicher beurteilen kann, wenn man vor allem die Allantoinausfuhr, daneben auch die Harnsäure- und Purinbasenausgabe verfolgt.

Bezüglich des Ablaufs des Purinstoffwechsels beim *Menschen* sind noch heute die Meinungen darüber geteilt, ob beim Menschen die Harnsäure das Endprodukt im Nucleinstoffwechsel darstellt, oder ob und in welchem Maße auch hier eine intermediäre Urikolyse statthat. Viele Autoren neigen der Ansicht zu, daß das bei den Tieren in der Leber und auch in anderen Organen vorkommende urikolytische Enzym, welches die Harnsäure unter Aufnahme von Sauerstoff in Allantoin überführt, in den Organen des Menschen fehlt.

Was nun die auf die Purinneubildung bezüglichen Literaturdaten betrifft, so ist seit langem bekannt, daß der *wachsende Organismus* die Fähigkeit besitzt, Purinkomplexe auf synthetischem Wege neu zu bilden. Dies wurde für den menschlichen Säugling erwiesen, ebenso wurde die Purinneubildung beim Ei des Seidenspinners und des Huhnes und für den Hungerstoffwechsel des Lachses festgestellt². Bezüglich der Purinsynthese im Organismus des *erwachsenen Menschen* und *Säugetieres* gehen die Ansichten der einzelnen Autoren weit auseinander. In der älteren Literatur³ finden sich viele Angaben, so von *Hirschfeld*, *Schreiber* und *Waldvogel*, *Burian* und *Schur*, *Fauvel* und *Umber*, welche die Möglichkeit einer synthetischen Harn-

¹ *Schüttenhelm* u. *Harpuder*, Oppenheimers Handb. d. Biochem. II. Aufl., 8, 602, 1925. — ² Vgl. die diesbezügliche Literatur bei *O. Fürth*, Lehrb. d. physiol. u. pathol. Chem. 2, 156, 1927. — ³ Vgl. Angaben bei *Kollmann*, diese Zeitschr. 123, 235, 1921.

säurebildung im Organismus des Erwachsenen Menschen ins Auge fassen lassen. Vor allem hat aber *H. Wiener*¹ auf Grund seiner Versuche an Rinderleberbrei die Möglichkeit einer Harnsäuresynthese im Säugetierorganismus in Erwägung gezogen. Seine Befunde konnten jedoch weder von *Burian*², noch von *Pfeiffer*³ bestätigt werden, so daß die beiden letztgenannten Autoren die Theorie von *Wiener* scharf ablehnen. Erst *G. Kollmann*⁴ gelang es, in *O. Fürths* Laboratorium einen deutlichen Beweis für die Möglichkeit einer synthetischen Purinneubildung im Organismus des erwachsenen Menschen zu liefern.

Betreffs der Purinsynthese im Säugetierorganismus nimmt *Rose*⁵ an, daß Purine aus Arginin und Histidin zusammen mit den Produkten des intermediären Kohlenhydratabbaues synthetisiert werden. Allerdings beziehen sich diese Beobachtungen auf junge Ratten. Jedoch auch bei erwachsenen Ratten hat *Truszkowski*⁶ auf Grund der Ergebnisse seiner Versuche eine Neubildung von Purinen angenommen. Ebenso lassen die von *Langfeldt* und *Holmsen*⁷ an einem ausgewachsenen Hunde angestellten Versuche die Möglichkeit einer Purinsynthese zu. Auch die von *Hirokawa*⁸ in *O. Fürths* Laboratorium am Hunde mit Nucleinsäure durchgeführten Untersuchungen sprechen für eine Purinneubildung. Schließlich hebt *Christman*⁹ hervor, daß man bei Versuchen mit Kaninchen bei Koständerungen, auch ohne daß der Gehalt an präformierten Purinstoffen sich ändert, eine starke Änderung in der Allantoinausscheidung beobachten kann. Wahrscheinlich ändert sich hierbei die synthetische Harnsäurebildung.

Da der Purinstoffwechsel des Menschen in seinem qualitativen und quantitativen Verlauf anscheinend schwierig zu übersehen ist, der Purinstoffwechsel im Säugetierorganismus hingegen in seinen einzelnen Phasen als geklärt aufgefaßt wird, erschien es uns von Interesse, ein neuerliches Studium des Problems der Purinsynthese an ausgewachsenen Hunden in Angriff zu nehmen. Dieser Aufgabe unterzogen wir uns um so eher, als *H. W. Larson*¹⁰ vor kurzem eine neue kolorimetrische Methode zur Bestimmung des Allantoins angegeben hat, welche den Angaben des Autors zufolge gute Resultate liefert.

II.

Die Versuche wurden an zwei mittelgroßen, ausgewachsenen Hunden unternommen, welche kalorienreich und derart gefüttert wurden, daß eine Einschmelzung des eigenen Körperprotoplasmas keineswegs erfolgen konnte. Die Hunde befanden sich während der einzelnen Versuchsperioden im Stoffwechselkäfig, das Körpergewicht der Versuchstiere wurde täglich kontrolliert. Der Harn wurde in Flaschen täglich unter Zusatz von Chloroform und Toluol gesammelt

¹ Beitr. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 79, 1902. — ² Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 530, 1904/05. — ³ Beitr. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 324, 1907. — ⁴ Diese Zeitschr. 123, 235, 1921. — ⁵ J. of biol. Chem. 48, 563, 1921; 64, 325, 1925. — ⁶ Biochem. J. 20, 437, 1926. — ⁷ Ebenda 19, 717, 1925. — ⁸ Diese Zeitschr. 26, 441, 1910. — ⁹ J. of biol. Chem. 86, 477, 1930. — ¹⁰ Ebenda 94, 727, 1931.

und genau abgemessen. In aliquoten Teilen desselben wurden neben *Gesamtstickstoffbestimmungen Purin- und Allantoinbestimmungen durchgeführt*. Der Purinstickstoffgehalt der *Nahrung* wurde den Tabellen von *Fellenberg*¹ entnommen, die Summe der im jeweiligen Harn ermittelten Purin- und Allantoinstickstoffzahlen ergab die Bilanz des Purinstoffwechsels.

Was nun die Natur der einzelnen Kosttypen betrifft, so gelangten prinzipiell drei verschiedene zur Anwendung und zwar 1. eine *eiweißreiche* und *relativ auch purinreiche*, 2. eine *ausgesprochen purinreiche* und 3. eine *fast purinfreie Nahrung*. Vor allem waren wir darauf bedacht, die Tiere möglichst bald in Stickstoffgleichgewicht zu bringen. Aus diesem Grunde wurde der Gesamtstickstoff der jeweiligen Kostart auf Grund der *Königschen* Tabellen² errechnet und gleichzeitig die Stickstoffausfuhr durch Kjeldahlisieren aliquoter Teile der entsprechenden Harne kontrolliert. Hierbei zeigte es sich, daß im Anfang jedes Versuchs eine gewisse Diskrepanz zwischen der Stickstoffzufuhr mit der Nahrung und der Stickstoffausfuhr mit dem Harn in dem Sinne bestand, daß im Harn weniger Stickstoff erschien, als die Hunde mit der Nahrung einverleibt bekamen. Erst gegen Ende jeder Versuchsperiode stellte sich das Stickstoffgleichgewicht einigermaßen ein.

In diesem Zusammenhang muß daran erinnert werden, daß der Organismus nicht alle dargebotenen Nahrungsmittel quantitativ ausnutzt, sondern daß ein Teil unausgenutzt mit dem Kot ausgeschieden wird. So haben *Frentzel* und *Schreuer*³ gezeigt, daß der Hundekot bei Fleischnahrung 8,6 bis 10,6 % Stickstoff enthalte. Weiter hat *Rauditz*⁴ im Hundeversuch festgestellt, daß bei Darreichung von roher Milch 13 bis 14 % Stickstoff im Kot erscheinen. Bei Fütterung mit Kartoffeln werden 15 bis 32 %, bei Reismahlung 20 % Stickstoff im Kot ausgeschieden⁵. Man wird also bei der Berechnung der Stickstoffbilanz wohl diese Tatsache der nicht vollständigen Ausnutzbarkeit der einzelnen Nährstoffe berücksichtigen müssen.

Es sei hier ferner eine Arbeit von *M. Gruber*⁶ erwähnt, in welcher der Autor hervorhebt, daß die verschiedenen Eiweißkörper und eiweißartigen Substanzen, welche bei der Verdauung entstehen und resorbiert werden, nicht mit gleicher Leichtigkeit im Organismus zerlegt werden. Wichtig erscheint uns die Feststellung desselben Autors, daß der *Extraktivstickstoff* viel *rascher* als der *Eiweißstickstoff* ausgeschieden wird.

Was nun unsere Versuchstiere anlangt, so ist hervorzuheben, daß beide während der ganzen Versuchszeit keineswegs an Gewicht abnahmen und nie mehr Stickstoff mit dem Harn ausführten als sie mit der Nahrung zugeführt bekamen, so daß aus diesen beiden Tatsachen geschlossen werden kann, daß ein erhöhter Zellerfall bei diesen Tieren bestimmt nicht stattgefunden hat.

¹ Diese Zeitschr. 88, 323, 1918. — ² *König*, Chem. d. menschl. Nahrungs- u. Genußm. 1, 1903. — ³ Arch. (Anat.) u. Physiol. 1902, S. 182; 1903, S. 463. — ⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 1, 1890. — ⁵ *Pincussen*, Oppenheimers Handb. 5, 318, 325, 1925. — ⁶ Zeitschr. f. Biol. 42, 407, 1901.

Der im Stoffwechsellkäfig befindliche Hund bekam täglich die genau abgewogene Kost und es wurde streng darauf geachtet, daß das Tier das Futter gänzlich verzehrte. In der ersten Versuchsperiode (*eivweißreiche und purinhaltige Nahrung, Kosttype I*) bekam der Hund täglich gebratenes Pferdefleisch und Milch. Das Pferdefleisch wurde in gebratenem und nicht in gekochtem Zustande verfüttert, weil *Fellenberg* (l.c.) nachweisen konnte, daß dem Fleisch beim Kochen rund 50 % Purine entzogen werden. Die *Kosttype II (purinarme Nahrung)* bestand aus Rindsleber, Reis, Kartoffeln und Milch. Die *purinarme Kosttype III* enthielt nur Reis und Milch. Zwischen den einzelnen Versuchsperioden wurde der Hund für 2 bis 3 Tage aus dem Stoffwechsellkäfig befreit und durch Darreichung der nächsten Kosttype für den nächsten Versuch vorbereitet.

Im jeweiligen, unter Zusatz von Chloroform und Toluol aufgefangenen Harn wurde der *Gesamtstickstoff* mittels der *Mikro-Kjeldahl-Methode* durchgeführt. Der *Purinstickstoffgehalt* des Harns wurde nach *Arnstein*¹ ermittelt, welche Methode wir für unsere Mikrozwecke modifizierten. 24 ccm Harn wurden mit 3 ccm *Ludwigscher* Magnesiainmischung und 3 ccm 20 %igen Ammoniaks versetzt. Nach dem Umschütteln der Reaktionsflüssigkeit wurde sofort durch ein kleines Faltenfilter filtriert. Vom Filtrat wurden 12,5 ccm (entsprechend 10 ccm Harn) mit 1 ccm *Ludwigscher* ammoniakalischer Silberlösung versetzt, der Niederschlag durch ein kleines aschefreies Filterchen durchgesaugt und am Filter ammoniakfrei gewaschen. Der Niederschlag wurde hierauf samt Filter in ein *Mikro-Kjeldahl-Kölbchen* gebracht und der Stickstoff darin ermittelt.

Die *Allantoinbestimmung* wurde infolge der leichten Zersetzlichkeit des Allantoins täglich in dem betreffenden Harn durchgeführt, und zwar nach der oben erwähnten Methode von *Larson*. Das Prinzip dieser kolorimetrischen Mikromethode beruht darauf, daß Allantoin nach Entfernung störender reduzierender Substanzen durch Phosphorwolframsäure und Bleiacetat zunächst mit einer von *Folin* und *Svedberg*² angegebenen ammoniakalischen Kupferlösung in Reaktion gebracht und hierauf, mit einem Phosphormolybdänsäurereagens umgesetzt, eine intensive Blaufärbung liefert, welche kolorimetrisch ausgewertet wird. In zahlreichen Vorversuchen an reinen Allantoinlösungen und an verschiedenen Harnen konnten wir uns davon überzeugen, daß diese Methode zuverlässige, wenn auch etwas höhere Werte als das klassische, allerdings sehr langwierige Verfahren von *Wiechowski*³ liefert. Die Allantoinbestimmung nach *Larson* dauert 2 Stunden, diejenige nach *Wiechowski* hingegen 10 bis 24 Stunden.

Nachstehend bringen wir einen Auszug aus unseren Protokollen:

Allantoinbestimmungen in reinen Lösungen.

Untersuchungs- lösung enthält Allantoin mg	Gefundenes Allantoin mg	Untersuchungs- lösung enthält Allantoin mg	Gefundenes Allantoin mg
0,5	0,58	1,4	1,42
0,8	0,81	1,6	1,60
1,2	1,21	1,8	1,80

¹ Zeitschr. f. biol. Chem. 23, 417, 1897. — ² J. of biol. Chem. 70, 418, 1926. — ³ Hofmeisters Beitr. 11, 101, 1908.

Zusatzversuche mit Allantoin zum Hundeharn.

1 cem Harn enthält Allantoin	Zu- gesetztes Allantoin	Wiedergefundenes Allantoin nach Abzug des präformierten Allantoins	1 cem Harn enthält Allantoin	Zu- gesetztes Allantoin	Wiedergefundenes Allantoin nach Abzug des präformierten Allantoins
mg	mg	mg	mg	mg	mg
1,92	5	4,27	1,78	5	4,30
2,00	5	4,89	1,90	5	5,10
1,96	5	5,30	2,01	5	5,30

Auf eine Beobachtung müssen wir hier allerdings hinweisen. Während nämlich *Larson* auf Grund der Untersuchungen von *Folin* und *Svedberg* annimmt, daß die ammoniakalische Kupferlösung durch den im Harn ausgeschiedenen Zucker praktisch nicht reduziert werde, hatten wir Gelegenheit festzustellen, daß dies unzutreffend sei und daß die Methode in zuckerhaltigen Harnen nicht zur Anwendung gelangen könne. Die Allantoinwerte fallen in Gegenwart von Zucker viel zu hoch aus und sind unbrauchbar. Bei der Untersuchung von zuckerhaltigen Harnen muß auf die Methode von *Wiechowski* zurückgegriffen werden.

III. Ergebnisse der Versuche.

Die Ergebnisse des gesamten Untersuchungsmaterials finden sich in Tabelle I und II zusammengefaßt.

Versuche am Hund A.

Betrachten wir zunächst die beim Hund A erhaltenen Resultate (Tabelle I). Das Anfangsgewicht des Hundes betrug 16,50 kg. Das Körpergewicht des Tieres nach Abschluß sämtlicher Versuche belief sich auf 16,70 kg. Jede Kosttype umfaßte zwei bis drei Versuchsperioden, von denen sich jede auf die Dauer von 5 Tagen erstreckte.

Kosttype I (zwei Versuchsperioden). Der Hund bekam täglich 500 g gebratenes Pferdefleisch und 500 g Milch mit einem Purinstickstoffgehalt von 0,237 g. Die *Purinstickstoffausscheidung* im Harn war eine minimale (0,011 bis 0,012 g). Hingegen war die *Allantoinstickstoffexkretion* eine enorme (0,318 bis 0,408 g pro Tag). Addiert man die zusammengehörenden Purin- und Allantoinstickstoffwerte und vergleicht die erhaltene Summe mit dem Purinstickstoffgehalt der Nahrung, so ergibt sich eine *Mehrausscheidung an Gesamtpurinstickstoff von 0,092 bis 0,183 g pro Tag.*

Kosttype II (zwei Versuchsperioden). Der Hund erhielt täglich 300 g gebratene Rindsleber, 100 g Reis, 100 g Kartoffel und 1 Liter Milch mit einem Gesamtpurinstickstoffgehalt von 0,319 g. Das Körpergewicht blieb konstant. Auch hier erschien der *Purinstickstoff* im Harn in *sehr kleinen Mengen* (0,017 bis 0,020 g). Hingegen konnte wieder eine *bedeutende Allantoinstickstoffausscheidung* im Harn verzeichnet werden (0,449 bis 0,486 g pro Tag). Die *Summe von Allantoin- und Purinstickstoff übertrifft den Purinstickstoff der Nahrung um 0,147 bis 0,187 g.*

Kosttype III (drei Versuchsperioden). Der Hund bekam täglich 100 g Reis und 1500 g Milch mit einem Purinstickstoffgehalt von 0,039 g. Das

Tabelle I (Hund A).

Kosttype	Zahl der Versuchstage	Gewicht des Hundes kg	Tägliche Kost	Der Tagesharn enthält in g (Mittelwerte):		Summe von Purin-N und Allantoin-N g	Tägliche Mehrausscheidung an Gesamtpurin-N gegenüber dem Nahrungspurin-N g
				Purin-N	Allantoin-N		
I	5	16,50	500 g Pferdefleisch und 500 g Milch, Gesamt-N = 20,3 g, Purin-N = 0,237 g	0,012	0,408	0,420	0,183
	5	16,60		0,011	0,318	0,329	0,092
II	5	16,60	300 g Rindsleber, 100 g Reis, 100 g Kartoffel, 1000 g Milch, Gesamt-N = 16,7 g, Purin-N = 0,319 g	0,020	0,486	0,506	0,187
	5	16,70		0,017	0,449	0,466	0,147
III	5	16,70	100 g Reis und 1500 g Milch, Gesamt-N = 9,4 g, Purin-N = 0,039 g	0,020	0,183	0,203	0,164
	5	16,50		0,016	0,207	0,223	0,184
	5	16,70		0,014	0,275	0,289	0,250

Tabelle II (Hund B).

Kosttype	Zahl der Versuchstage	Gewicht des Hundes kg	Tägliche Kost	Der Tagesharn enthält in g (Mittelwerte):		Summe von Purin-N und Allantoin-N g	Tägliche Mehrausscheidung an Gesamtpurin-N gegenüber dem Nahrungspurin-N g
				Purin-N	Allantoin-N		
I	4	17,30	500 g Pferdefleisch und 500 g Milch, Gesamt-N = 20,3 g, Purin-N = 0,237 g	0,025	0,493	0,518	0,281
	4	17,60		0,023	0,433	0,456	0,219
	2 1/2	17,80		0,040	0,387	0,427	0,190
II	4	17,80	300 g Rindsleber, 100 g Reis, 100 g Kartoffel und 250 g Milch, Gesamt-N = 12,6 g, Purin-N = 0,308 g	0,041	0,359	0,400	0,092
	4	17,80		0,033	0,420	0,453	0,145
	1	17,70		0,028	0,340	0,368	0,060
III	4	17,70	100 g Reis und 1000 g Milch, Gesamt-N = 6,7 g, Purin-N = 0,032 g	0,042	0,235	0,277	0,245

Körpergewicht des Hundes blieb unverändert. Der Purinstickstoff des Harns war gering (0,014 bis 0,020 g pro Tag). Da der Harn zuckerhaltig war, wurde die *Allantoinbestimmung* nach *Wiechowski* durchgeführt. Trotz der fast purinfreien Ernährung belief sich die Allantoinstickstoffausscheidung auf 0,183 bis 0,275 g. Die *Summe Allantoin- und Purinstickstoff des Harns erscheint um 0,164 bis 0,250 g pro Tag* gegenüber dem Purinstickstoff der *Nahrung vermehrt*.

Die gesamte Versuchszeit erstreckte sich somit auf sieben Versuchsperioden mit je 5 Tagen (Gesamtdauer des ganzen Versuchs 35 Tage). *Multipliziert* man die in jeder einzelnen Versuchsperiode für die *tägliche Mehrausscheidung an Gesamtpurinstickstoff erhaltene Zahl mit 5*, so ergibt sich der Wert für die *Mehrausscheidung an Gesamtpurinstickstoff in der betreffenden Versuchsperiode*. Addiert man nun die in den sieben Versuchsperioden auf diese Weise errechneten Werte, so zeigt sich, daß der Hund in den *35 Tagen 6,495 g an Gesamtpurinstickstoff mehr ausschied* als ihm in der Nahrung an Purinbasenstickstoff zugeführt worden war.

Versuche am Hund B.

Das Anfangsgewicht des Hundes betrug 17,30 kg. Das Gewicht nach Beendigung sämtlicher Versuche belief sich auf 17,70 kg.

Kosttype I (drei Versuchsperioden). Der Hund bekam täglich 500 g Pferdefleisch und 500 g Milch mit einem Gesamtpurinstickstoffgehalt von 0,237 g. Die *Purinstickstoffausscheidung im Harn* ist zwar größer als beim Hund A, ist aber, absolut genommen, *sehr klein* (0,023 bis 0,40 g pro Tag). Die *Allantoinstickstoffausscheidung* ist wieder *sehr hoch* (0,387 bis 0,493 g pro Tag). Die im Harn bestimmte *Summe von Allantoin- und Purinstickstoff übertrifft den Purinstickstoffgehalt der Kost um 0,190 bis 0,281 g pro Tag*.

Kosttype II (drei Versuchsperioden). Dem Hund wurden täglich 300 g gebratene Rindsleber, 100 g Kartoffel, 100 g Reis und 250 g Milch verabreicht, mit einem Purinstickstoffgehalt von 0,308 g. Der *Purinstickstoffgehalt des Harns* hat sich gegenüber demjenigen der Kosttype I fast gar nicht geändert (0,028 bis 0,041 g pro Tag). Der *Allantoinstickstoff* ist *ziemlich hoch* (0,340 bis 0,420 g pro Tag). Die *Summe Allantoin- und Purinstickstoff* ergibt im Vergleich zum Purinstickstoffgehalt der Kost *eine Mehrausscheidung an Gesamtpurinstickstoff von 0,060 bis 0,145 g pro Tag*.

Kosttype III (eine Versuchsperiode). Der Hund erhielt täglich 100 g Reis und 1000 g Milch mit einem Purinstickstoffgehalt von 0,032 g. Auch hier war der Harn des Hundes analog wie beim Hund A zuckerhaltig, so daß die Allantoinbestimmung nach *Wiechowski* ausgeführt werden mußte. Der *Purinstickstoff des Harns* belief sich auf *0,042 g* und der *Allantoinstickstoff* auf *0,235 g*. Aus diesen Zahlen folgt eine *Mehrausscheidung an Gesamtpurinstickstoff von 0,245 g pro Tag*.

Die gesamte Versuchsdauer umfaßte beim Hund B sieben Versuchsperioden und erstreckte sich auf $23\frac{1}{2}$ Tage. In dieser Zeit schied der Hund an *Gesamtpurinstickstoff um 4,463 g mehr aus als ihm Purinbasen* mit der *Nahrung einverleibt* worden waren.

Überblickt man das gesamte Zahlenmaterial, so läßt sich folgendes aussagen: In Übereinstimmung mit den oben erwähnten Literaturangaben erscheinen die mit der *Nahrung dem Hunde zugeführten Purinbasen in der Hauptmenge in Form von Allantoin* und nur zu einem

kleinen Bruchteil in Gestalt von unveränderten Purinbasen im Harn wieder. Die tägliche Purinstickstoffausscheidung ist sowohl beim Hund A als auch beim Hund B von der Art der dargereichten Nahrung vollkommen unabhängig. Dagegen erweist sich die Allantoinstickstoffausscheidung bei beiden Versuchstieren weitgehend beeinflusst durch die Art der gereichten Kost.

Bei der Fütterung mit eiweißreichem und ziemlich stark purinhaltigem Material ergibt sich bei beiden Hunden eine hohe Allantoinstickstoffausscheidung und eine gewaltige Mehrausscheidung an Gesamtpurinen im Vergleich zum Puringehalt der Kost (Hund A = 6,495 g, Hund B = 4,463 g). Diese Mehrausscheidung scheint in hohem Maße durch das stark eiweißhaltige Material bedingt zu sein.

Eine ähnliche Beobachtung wurde bereits von Dunn und Doisy¹, von C. W. Rose² und von Marcs³ gemacht. Die genannten Autoren nehmen unabhängig voneinander an, daß Eiweiß und die Aminosäuren durch Anregung der metabolischen Vorgänge in der Zelle auch auf die Purinbasenausscheidung wirken, ähnlich wie sie einen spezifisch-dynamischen Einfluß auf den Gesamtumsatz ausüben.

Was die bei der Kosttype II (sehr purinreiche Nahrung) erzielten Ergebnisse betrifft, so ist auch hier besonders beim Hund A eine beträchtliche Mehrausscheidung an Gesamtpurinen im Harn gegenüber dem Puringehalt der Nahrung zu verzeichnen.

Am bemerkenswertesten sind die bei der Kosttype III bei beiden Hunden erhaltenen Resultate. Trotz der fast purinfreien Ernährung konnten wir im Harn beider Tiere neben Purinstickstoff bedeutende Mengen Allantoinstickstoff bestimmen. Da beide Hunde während des Versuchs an Gewicht keine Einbuße erlitten haben, kann diese relativ enorme Gesamtpurinausscheidung im Harn keineswegs auf eine Einschmelzung des eigenen Körpereiweiß, also auf einen Abbau kernhaltigen Zellmaterials allein zurückgeführt werden. Es deutet vielmehr dieses Ergebnis im Verein mit den mit Kosttype I und II erzielten Resultaten darauf hin, daß der Hundeorganismus zur synthetischen Purinneubildung befähigt sei. Dabei ist es sehr wenig wahrscheinlich, daß bei diesem Prozeß die Endstufe des Purinstoffwechsels, das Allantoin, synthetisiert werde, obwohl Eppinger⁴ auch diese Möglichkeit durch einen Hunderversuch erwiesen hat. Der Autor konnte nämlich zeigen, daß bei Verfütterung von Glykolydiharnstoff und bei der Durchblutung der Leber eine Allantoinbildung erfolgt. Es kommt uns jedoch viel wahrscheinlicher vor, daß der Hundeorganismus unter dem Einfluß verschiedener Faktoren Purinkomplexe neuzubilden vermag, um sie dann

¹ J. of biol. Chem. 36, 9, 1918. — ² Ebenda 48, 563, 1921. — ³ Arch. slav. Biol. 3, 20, 1919. — ⁴ Hofmeisters Beitr. 6, 287, 1905.

dem Verbande von Nucleinsäuremolekülen einzuverleiben. Auf diese Fähigkeit des Säugetierorganismus hat schon *O. Fürth*¹ hingewiesen. Die *Allantoinbildung selbst* dürfte dann auf *oxydativem Wege aus den Purinbasen* erfolgen.

Schließlich sei noch in diesem Zusammenhange auf eine Arbeit von *Nobuyoshi Umeda*² aufmerksam gemacht, in welcher der Verfasser angibt, daß mit kohlenhydratreicher Kost eine hohe Purinausscheidung einhergeht, beim Menschen für Harnsäure, beim Hund für Allantoin. Es ergeben sich für den Autor gewisse Anzeichen für eine *synthetische Purinbildung* bei *kohlenhydratreicher Nahrung*. Die von uns mit Kosttype III an beiden Hunden erzielten Resultate scheinen die Annahme dieses Autors zu bestätigen.

Zusammenfassung.

Zwei im Stoffwechsellkäfig befindlichen Hunden wurden drei verschiedene Kosttypen gereicht: 1. eine *eivweiß- und relativ auch purinreiche*, 2. eine *sehr purinreiche* und 3. eine *sehr purinarmer*. Das Körpergewicht der Hunde blieb während der ganzen Versuchszeit konstant, so daß ein Abbau von kernhaltigem körpereigenem Zellmaterial ausgeschlossen werden konnte. In dem unter Zusatz von Toluol und Chloroform aufgefangenen Harn wurde der *Purinstickstoff* nach *Arnstein* und der *Allantoinstickstoff* nach *Larson* bestimmt und die erhaltenen Werte in einer Tabelle zusammengefaßt.

In Übereinstimmung mit vielen Literaturangaben findet sich im Hundeharn nur eine verschwindend *kleine Menge von Purinbasen* neben *sehr viel Allantoin*, das offenbar das *Endprodukt des Purinstoffwechsels beim Hund* darstellt.

Bei allen Kosttypen ergab sich eine *bedeutende Mehrausscheidung an Gesamtpurin-N* im Harn im Verhältnis zum Puringehalt der Nahrung. (Bei dem einen Hund betrug diese Mehrausscheidung 6,495 g, bei dem anderen 4,463 g.) Besonders auffallend war das diesbezügliche Ergebnis bei der Fütterung mit einer *fast purinfreien Kost*, bei welcher ein *Viel-faches* des mit der Nahrung zugeführten *Purinstickstoffs* im Harn zum Vorschein kam. Die allenthalben erhaltenen Resultate sprechen für die *Wahrscheinlichkeit einer synthetischen Neubildung von Purinkomplexen* im *Hundeorganismus*, aus denen durch *Oxydation Allantoin* hervorgehen dürfte. Eine Beeinflussung dieser synthetischen Purin-neubildung durch eine spezifisch-dynamische Eiweißwirkung oder durch reichliche Kohlenhydratzufuhr liegt durchaus im Bereich der Möglichkeit.

¹ Probleme 2, 155, 1913. — ² Biochem. J. 9, 421, 1916.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Akiji Fujita und Takeshi Kodama. Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. I. Mitteilung: Bestimmung der Stoffwechselquotienten pathogener Bakterien	367
A. W. Blagowestschenski und T. A. Schubert. Bestimmung einiger Aminosäuren im Globulin der Sonnenblumensamen	375
Otto Fürth, Harald Minnebeck und Emil Edel (unter Mitwirkung von Eduard H. Majer und Herbert Reisner). Die Rolle der Citronensäure im Kohlenhydratstoffwechsel	379
Regine Kapeller-Adler und Anita Luisada. Über Extraktivstoffe der Leber	397
E. Werle. Zur Kenntnis des Haushalts des Kallikreins	415
E. Werle und P. Eckey. Vergleichende Untersuchung über Kallikrein- und Trypsinkonzentration im menschlichen Duodenalsaft	435
Maria Kobel und Carl Neuberg. Zur Frage des Auftretens von Triose beim desmolytischen Hexosenabbau	441
Hans Gaffron. Über die Kohlensäure-Assimilation der roten Schwefelbakterien. I.	447

Fortschritte der Botanik

Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen herausgegeben von
Fritz von Wettstein, Professor an der Universität München.

Erster Band: Bericht über das Jahr 1931.

Mit 16 Abbildungen. VI, 263 Seiten. 1932. RM 18.80

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte:** Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmischer, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Der Wasserumsatz in der Pflanze. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Stoffwechsel I. Allgemeiner Stoffwechsel. Von Professor Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Stoffwechsel II. Heterotrophe und Spezialisten. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung:** Wachstum und Bewegungserscheinungen. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. — Entwicklungsphysiologie. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von W. Schwarz, Darmstadt.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

Zweiter Band: Bericht über das Jahr 1932.

Mit 37 Abbildungen. IV, 302 Seiten. 1933. RM 24.—

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte:** Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmischer, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Mineralstoffwechsel. Von Privatdozent Dr. K. Pirschle, München. — Stoffwechsel organischer Verbindungen. Von Privatdozent Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Mikrobiologie des Bodens. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung:** Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. — Entwicklungsphysiologie. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von A. Köckemann, Freiburg i. Br.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Sachverzeichnis. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Chemie der organischen Farbstoffe

Von **Professor Dr. Fritz Mayer**

Soeben erschien in dritter, umgearbeiteter Auflage:

Erster Band: **Künstliche organische Farbstoffe.**

Mit 5 Abbildungen. IV, 255 Seiten. 1934. RM 23.60; gebunden RM 24.80

Das bekannte Werk erscheint in völlig neubearbeiteter Form in dritter Auflage in zwei Bänden. Der erste Band enthält nur noch die künstlichen organischen Farbstoffe, während die natürlichen Farbstoffe in einer etwas breiteren und vor allem lückenlosen Darstellung in dem zweiten übers Jahr erscheinenden Band zusammengefaßt werden. In den 10 Jahren seit Erscheinen der letzten Auflage war der Fortschritt der Wissenschaft und Technik groß. Dementsprechend konnten in dem Abschnitt Azofarbstoffe die Chromierfarbstoffe, die Pigmentfarbstoffe und die Naphthol-AS-Farbstoffe stärker berücksichtigt werden. Bei den Cyaninfarbstoffen für photographische Zwecke ließ sich auf Grund der zahlreichen die Konstitution der Farbstoffe betreffenden Arbeiten eine umfassende Darstellung des interessanten Gebietes geben. Die wertvollen Arbeiten über die Konstitution der Schwefelfarbstoffe sind in vollem Umfange berücksichtigt worden. Endlich ist der Abschnitt über Anthrachinonfarbstoffe von Grund auf umgestaltet worden. Er enthält u. a. erstmals die Theorie des Reaktionsmechanismus der Bohn-Schmidtschen Reaktion und ferner eine erschöpfende Übersicht über die Küpenfarbstoffe.

Chemiker-Kalender 1934. Ein Hilfsbuch für Chemiker, Physiker, Mineralogen, Hüttenmänner, Industrielle, Mediziner und Pharmazeuten. Begründet von Dr. Rudolf Biedermann. Fortgeführt von Professor Dr. W. A. Roth. Herausgegeben von Professor Dr. **I. Koppel.** 55. Jahrgang. 1934. Drei Teile in zwei Bänden gebunden RM 20.—

Erster Teil: Taschenbuch. VIII, 56 Seiten und 119 Seiten.

Zweiter Teil: Dichten. Löslichkeiten. Analyse. Mit zahlreichen Figuren im Text. IV, 737 Seiten.

Dritter Teil: Theoretischer Teil. Mit zahlreichen Figuren und 1 Tafel. VI, 622 Seiten.

Die bewährte Gliederung des Kalenders in drei Teile, die in zwei Ganzleinenbände gebunden sind, ist auch für das Jahr 1934 beibehalten worden. Verbesserungen und Ergänzungen haben den Kalender wieder auf den neuesten Stand gebracht, so daß er für den Praktiker wie für den Wissenschaftler das bewährte ausgezeichnete Auskunftsmittel bleibt, das ein schnelles, zuverlässiges und kritisches Arbeiten ermöglicht. Der Kalender bildet durch seine umfangreichen Tabellen aus allen Gebieten chemischer Forschung, durch seine Arbeitsvorschriften (besonders auch für analytische und technisch-chemische Untersuchungen) sowie durch seine theoretischen Erläuterungen ein vorzügliches, nie versagendes Nachschlagewerk. Mit bemerkenswerter Umsicht hat der Herausgeber nicht nur den Inhalt des Kalenders modernisiert, sondern ihn wieder durch bisher noch nicht berücksichtigte Gebiete erweitert, u. a.: Korrosion der Metalle — Toxikologisch-chemische Untersuchungen — Bildungswärmen organischer Stoffe — Röntgenstrahlenbeugung in Molekeln und Kristallen — Schmelzen, Erstarren, Verdampfen, Sieden — Metallographie — Geochemie — Chemische Industrie Japans — Sprengstoffe und Zündmittel. Vollständig neu bearbeitet wurde der Abschnitt Spektralanalyse. Von älteren Abschnitten, die 1933 vorübergehend gefehlt haben, wurden wieder aufgenommen: Keramik — Ätherische Öle — Zucker.

Verlag von Julius Springer in Berlin

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden-Halle a. S., M. Ascoli-Palermo, L. Asher-Bern, E. Aubel-Paris, A. Bach-Moskau, G. Barger-Edinburgh, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Belgrad, Fr. Boas-München, J. Bodnár-Debreczen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch Moskau, M. Cremer-München, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, R. Ege-Kopenhagen, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, M. Ferreira de Mira-Lissabon, S. Flexner New York, A. Fodor-Jerusalem, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-London, E. Friedmann-Moskau, Cl. Fromageot-Lyon, O. Fürth-Wien, M. Hahn Berlin, E. Hammarsten Stockholm, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund Stockholm, V. Henri-Lüttich, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Berlin, R. Höber-London, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, B. Kisch-Köln, G. Klein-Heidelberg, W. Klein-Bonn, A. J. Kluyver-Delft, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann Berlin, P. A. Levene-New York, S. Loewe-Mannheim, A. Loewy-Davos, H. Lüers München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, A. McKenzie Dundee, J. Meisenheimer Tübingen, Kurt H. Meyer-Genf, O. Meyerhof-Heidelberg, L. Michaelis-New York, H. Molisch-Wien, W. Nernst-Berlin, K. Noack-Berlin, C. v. Noorden-Wien, Orla-Jensen-Kopenhagen, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, W. H. Peterson Madison, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Hamburg, Ch. Porcher-Paris, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, A. Rippel-Göttingen, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, T. Sasaki Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, E. Schmitz-Breslau, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, J. Stoklasa Prag, W. Straub-München, H. Steenbock-Madison, K. Suto Kanazawa, U. Suzuki Tokio, K. Thomas-Leipzig, F. Verzár-Basel, A. I. Virtanen-Helsingfors, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, A. Wohl Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg und W. Grassmann

Berlin-Dahlem

München

Sonderabdruck aus 269. Band, 4.—6. Heft

Regine Kapeller-Adler und Anita Luisada:
Über Extraktivstoffe der Leber



Berlin

Verlag von Julius Springer

1934



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 11½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an die Herausgeber:

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hiltorfstraße 18, oder
Herrn Prof. Dr. W. Grassmann, München 65, Würmtalstraße 8,

zu richten.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Autoren erhalten eine *Fahnenkorrektur*. Revisionen können nur ausnahmsweise verfolgt werden und verursachen oft eine Zurückstellung der Mitteilung. Auf Wunsch der in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeiter wird die Korrektur ihrer Abhandlung hier gelesen, wodurch ein beschleunigtes Erscheinen ermöglicht wird.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von RM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle RM 30.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichender der Autor sich verpflichtet.

Von Arbeiten bis zum Umfange von 24 Druckseiten werden 50 Sonderdrucke, von längeren Arbeiten 30 Sonderdrucke gratis geliefert. Weitere 50 bzw. 30 Sonderdrucke werden zu den bisherigen billigen Preisen geliefert. Der Bezug von Sonderdrucken in noch größerer Zahl ist unerwünscht, weil deren Versendung den Absatz der Zeitschrift beeinträchtigt. Die Berechnung solcher Extrasonderdrucke erfolgt zu den Bogenpreisen des betreffenden Heftes.

Dissertationsexemplare werden von der Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht geliefert.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

269. Band

Inhaltsverzeichnis

4.—6. Heft

	Seite
Kurt P. Jacobsohn und João Tapadinhas. Über das Gleichgewicht im System der Fumarase	225
Shigehiro Katsura, Tatsuo Hatakeyama und Kichiro Tajima. Eine titrimetrische Bestimmungsmethode für kleine Mengen Phosphatide, freies Cholesterin, Cholesterinester, Neutralfette und Gesamtlipoide des Blutes, des Blutplasmas und der Blutkörperchen	231
Joachim Schubert. Über dynamische Wirkungen von Aminosäuren auf einzelne Organfunktionen und den Lungengaswechsel beim Menschen	241
Regine Kapeller-Adler, Edith Lauda und Koloman von Mégay. Zur Frage der Purinsynthese im Säugetierorganismus	254
Regine Kapeller-Adler und Fritz Haas. Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Carnosins in biologischen Flüssigkeiten	263
Margrethe Sörensen. Über den Kohlenhydratgehalt der Proteine des Hühnereiweißes	271
Heinz Holter und Bent Andersen. Vergleich der Pepsin- und Labaktivität verschiedener Magensekrete	285
Elin Edwards Fog. Die Veränderungen des kolorimetrischen Index, Volumenindex und Saturationsindex bei Kupferbehandlung der experimentellen Milchanämie	301
Einar Lundsgaard. Phosphagen- und Pyrophosphatumsatz in jodessigsäurevergifteten Muskeln	308
Carsten Olsen. Über die Manganaufnahme der Pflanzen	329
Sören L. Ørskov. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Kohlensäure auf die Permeabilität der Ammoniumsalze	349

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über Extraktivstoffe der Leber.

Von

Regine Kapeller-Adler und Anita Luisada.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität in Wien.)

(Eingegangen am 12. Februar 1934.)

Das Auftreten einer postmortalen Säuerung der Leber hat schon ziemlich frühzeitig das Interesse verschiedener Forscher geweckt. Einem besonders eingehenden Studium wurden die mit der Autolyse der Leber parallel verlaufenden fermentativen Vorgänge in derselben unterworfen.

Schon in der älteren Literatur¹ finden wir Angaben über die Natur der bei der Leberautolyse auftretenden Säuren. Es handelt sich den erwähnten Autoren zufolge um Säuren wie Kohlensäure, Essigsäure, Milchsäure, Buttersäure und Bernsteinsäure, wobei die Frage des Milchsäureauftretens bei der Leberautolyse besonders eingehend untersucht wurde. In diesem Zusammenhang stellte *Türkel*² fest, daß der Milchsäuregehalt von Leberautolysaten in den ersten Tagen zunächst zunehme, um dann wieder um ein Beträchtliches abzunehmen. *Salkowski* und *Stein*³, welche dieselbe Beobachtung gemacht haben, nehmen an, daß in Leberautolysaten neben einem milchsäurebildenden Ferment noch ein milchsäurezerstörendes vorhanden sei. *Sevringhaus*⁴ konnte als erster darauf hinweisen, daß die Milchsäure, die bis dahin als der Hauptfaktor der postmortalen Säuerung der Leber aufgefaßt wurde, eigentlich bei diesem Prozeß eine untergeordnete Rolle spiele und daß hierbei in erster Linie die Phosphorsäure in Betracht zu ziehen sei. Die bei der Leberautolyse auftretende Phosphorsäuremenge bildet ungefähr das Zehnfache des Milchsäuregehalts. *Rona* und Mitarbeiter⁵ haben bezüglich des Phosphorsäureauftretens bei der Leberautolyse ähnliche Beobachtungen wie *Sevringhaus* gemacht. *Laves* und *Schadendorff*⁶ machen für die Vermehrung der freien Säuregruppen bei der Leberautolyse hauptsächlich die Spaltung von Eiweißkörpern verantwortlich.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten zunächst Untersuchungen über die Zusammensetzung von Leberextrakten und über die Stickstoffverteilung in denselben angestellt werden. Im weiteren Verlaufe der Arbeit wurden unter ähnlichen Gesichtspunkten käufliche, antianämisch wirksame Präparate in den Kreis der Untersuchungen einbezogen.

¹ *Příbram*, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 78, 2. Abt., 1887; *Ekunina*, J. prakt. Chem. N. F., 21, 488, 1880; *Wyssokowits*, du Bois Arch. 1887, S. 91; *Magnus-Levy*, Hofmeisters Beitr. 2, 261, 1903. — ² Diese Zeitschr. 20, 431, 1909. — ³ Ebenda 40, 486, 1912. — ⁴ J. of biol. Chem. 57, 163, 1923. — ⁵ Diese Zeitschr. 162, 87, 1925. — ⁶ Zeitschr. f. physiol. Chem. 210, 168, 1932.

I. Über die Aziditätsverhältnisse in Leberextrakten.

100 g frischer Kalbsleber wurden mit Hilfe einer Fleischhackmaschine zerkleinert, dreimal mit je 150 ccm Wasser ausgekocht und die vereinigten Auszüge klar filtriert. Nach dem Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen wurde die Lösung zur Konservierung mit einigen Tropfen Chloroform und Toluol versetzt. Dieser Auszug bildete das Ausgangsmaterial für die nachfolgenden Untersuchungen. Zwecks Ermittlung der *Gesamtazidität* dieses Extraktes wurden aliquote Teile desselben mit n/10 Lauge gegen Phenolphthalein titriert. Hierauf wurde zur näheren Charakterisierung der in der Leber enthaltenen Säuren die *ätherlösliche Säurefraktion* durch mehrstündige Ätherextraktion des mit Phosphorsäure angesäuerten Leberauszuges im rotierenden *Lindtschen* Apparat abgetrennt. In dem so gewonnenen Ätherextrakt bestimmten wir zunächst nach vorsichtigem Abdampfen des Äthers im Vakuum bei Zimmertemperatur die *Gesamtazidität* desselben durch Titration mit n/10 Lauge und Phenolphthalein. Die Aufteilung des Ätherauszuges erfolgte in eine Fraktion *flüchtiger Säuren* und eine solche *nicht flüchtiger Säuren*. Die letzteren wurden ihrerseits in einen *wasserlöslichen* und einen *wasserunlöslichen Teil* zerlegt. Die *flüchtigen Säuren* destillierten wir nach *Welde*¹ bei 60° unter vermindertem Druck ab und fingen sie in überschüssiger n/10 Lauge auf. Der hinterbleibende, nicht flüchtige Säureanteil wurde mit kaltem Wasser digeriert, wobei zwei Fraktionen, eine wasserlösliche und eine wasserunlösliche gebildet wurden. Der *wasserunlösliche* Teil, der hauptsächlich aus *höheren Fettsäuren* bestehen dürfte, wurde in 50%igem Alkohol aufgelöst und mit n/100 Lauge und Phenolphthalein titriert. Die Azidität der wasserlöslichen Fraktion wurde ebenfalls durch Titration mit n/100 Lauge gegen Phenolphthalein ermittelt. Schließlich wurde in diesem wasserlöslichen Anteil *Milchsäurebestimmungen* nach *Friedemann*² durchgeführt.

Unter vollkommen analogen Bedingungen fraktionierten wir die Leberautolysate. Die Autolysenversuche führten wir so durch, daß jeweils 100 g der fein zerkleinerten Kalbsleber in Glasdosen mit eingeschliffenen Stopfen in 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit Chloroform und Toluol reichlich versetzt wurden. Die einzelnen Proben wurden nach kräftigem Durchschütteln in einen Brutofen gebracht, wobei sie täglich durchgeschüttelt wurden. Von Zeit zu Zeit setzten wir etwas Chloroform hinzu. Nach abgebrochener Autolyse koagulierten wir den Inhalt der einzelnen Glasgefäße durch 10 Minuten langes Kochen, filtrierten die Flüssigkeit ab und kochten den Rückstand mit Wasser aus. Dieser Vorgang wurde im ganzen dreimal wiederholt. Die vereinigten und filtrierten Aus-

¹ Diese Zeitschr. 28, 504, 1910. — ² J. of biol. Chem. 73, 335, 1927; 82, 23, 1929.

züge wurden auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Diese Lösung bildete das Ausgangsprodukt für die schon oben beschriebenen Untersuchungen.

Die bei den gesamten Untersuchungen erzielten Resultate¹ finden sich in der Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I.
Azidität von Leberfraktionen.
100 g Kalbsleber enthalten COOH in Grammen:

Dauer der Autolyse	Azidität des wässerigen Leberextraktes	Ätherextrakt des ursprünglichen Leberauszuges					
		Gesamtazidität des Ätherextraktes	Fraktionierung des Ätherextraktes			Gesamtazidität der Lösungen A + B + C	Milchsäure in g COOH
			Flüchtige Säuren	Nichtflüchtige Säuren			
				Wasserunlösliche Säuren B	Wasserlösliche Säuren C		
A	B	C					
Ohne Autolyse	0,2146	0,0535	0,0330	0,0091	0,0285	0,0706	0,0124
3 Tage	0,3332	0,0718	0,0267	0,0079	0,0619	0,0965	0,0446
7 "	0,3615	0,0962	0,0205	0,0049	0,0847	0,1101	0,0649
11 "	0,3751	0,1140	0,0224	0,0036	0,0968	0,1228	0,0632
21 "	0,4518	0,1371	0,0303	0,0027	0,1277	0,1607	0,0542
34 "	0,5196	0,1408	0,0463	0,0010	0,1092	0,1565	0,0394

Betrachtet man die einzelnen Ergebnisse, so ergibt sich folgendes: Die *Gesamtazidität* des Extraktes aus einer frischen Kalbsleber beläuft sich auf 0,2 g (in Carboxyl ausgedrückt) für 100 g. Äthert man den wässerigen Auszug aus, so geht nur etwa *ein Viertel der Säuren* in den Äther über. Unter diesen *ätherlöslichen Säuren* bilden die *flüchtigen Säuren* den *Hauptanteil*, in etwas *geringerer Menge* sind die *wasserlöslichen Säuren* vertreten, dagegen ist der Anteil der *wasserunlöslichen Säuren* verschwindend *klein*. Die *Milchsäure* bildet fast die *Hälfte der wasserlöslichen Fraktion*. Vergleichen wir mit diesen Ergebnissen diejenigen der *Autolyseversuche*, so müssen wir folgendes feststellen: Mit *zunehmender Autolyse* steigt die *Gesamtazidität* des ursprünglichen Leberauszuges, und zwar besonders stark bis zum *siebenten Tage*. Von da ab ist zwar noch immer ein *Anwachsen* der *Gesamtazidität* zu beobachten, der *Anstieg* ist aber nur ein *allmählicher*. Die *Gesamtazidität des Ätherextraktes* nimmt hingegen *kontinuierlich* mit der *Zahl der Autolysetage* zu. Die *flüchtigen Säuren* nehmen in den ersten Tagen

¹ Die Beleganalysen für sämtliche im Rahmen dieser Arbeit angeführten Werte finden sich in der Dissertationsarbeit *Anita Luisada*, Wien.

der Autolyse etwas ab, um dann wieder langsam anzusteigen. Die *nichtflüchtigen, wasserunlöslichen* Säuren zeigen mit zunehmender Autolyse eine Tendenz zur Verminderung. Die Menge der *nichtflüchtigen, wasserlöslichen* Säuren nimmt bis zum 21. Autolysentage konstant zu, dann etwas ab. Einer besonderen Berücksichtigung wert erscheint die *Milchsäure*. Ihre Menge steigt bis zum 7. Tage der Autolyse beträchtlich an und sinkt nach dieser Zeit langsam ab.

Diese Beobachtung steht in gutem Einklang mit den Feststellungen von *Türkel* (l. c.), von *Salkowski*¹ und von *Inouye*², welche Autoren in Leber- und Muskelautolysaten ebenfalls zuerst ein Anwachsen der Milchsäuremenge und dann ein Absinken derselben verzeichnet haben. Der Höhepunkt der Milchsäurezunahme bei der Autolyse wird von den einzelnen Autoren verschieden angegeben. *Salkowski* stellt einen solchen in der 72. Stunde fest, *Inouye* hingegen erst am 7. Tage. *O. Fürth*³ beobachtete bei der Autolyse einer Menschenleber eine Milchsäureabnahme am 3. Tage.

Schließlich muß noch auf folgende auffällige Beobachtung hingewiesen werden: Werden die *einzelnen Fraktionen des Ätherextraktes* (in der Tabelle I mit *A, B, C* bezeichnet) addiert und die erhaltene Zahl mit dem Wert für die Gesamtazidität des Ätherextraktes verglichen, so ergibt sich eine Diskrepanz zwischen diesen beiden Ergebnissen, und zwar ist die durch Addieren der einzelnen Fraktionen ermittelte Zahl viel höher als diejenige für die Gesamtazidität. Diese Feststellung gilt nicht nur für die Untersuchung der frischen Leberauszüge, sondern auch für diejenige sämtlicher Autolysate. Es hat also den Anschein, als ob bei der *Aufarbeitung des Ätherauszuges Säuren neugebildet worden wären*. Diese Neubildung könnte nur bei der Destillation der flüchtigen Säuren erfolgt sein, weil hier die Flüssigkeit, wenn auch unter vermindertem Druck, immerhin auf 60° erwärmt worden ist.

Da die Feststellung der Säurezunahme bei der Aufarbeitung des Ätherextraktes bei höherer Temperatur bemerkenswert erschien, wurde zur näheren Beleuchtung dieser Frage folgender Versuch unternommen: Aliquote Teile sowohl von einem frischen Leberauszug als auch von einem Leberautolysat, deren Gesamtazidität sämtlich vorher festgestellt worden war, wurden auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingeeengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit n/10 Lauge gegen Phenolphthalein titriert. Die Resultate dieser Versuche finden sich in der Tabelle II.

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, daß die *Azidität des frischen Leberextraktes nach dem Eindampfen* am Wasserbad auf mehr als das

¹ Diese Zeitschr. 40, 486, 1912. — ² Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 481, 1908. — ³ Diese Zeitschr. 69, 199, 1915.

Tabelle II.
100 g Kalbsleber enthalten COOH in Grammen:

Dauer der Autolyse	Azidität des wässrigen Leberextraktes	Azidität nach dem Eindampfen am Wasserbad	Azidität nach dem Eindampfen am Wasserbad im Vakuum
Ohne Autolyse	A 0,2146 B 0,1811	0,4801 0,4679	
3 Tage	A 0,3332 B 0,3923	1,1804 1,0100	0,8026
18 Tage	0,4282	1,0847	
34 Tage	0,5196	0,8471	

Doppelte gestiegen ist, obwohl die flüchtigen Säuren bei dieser Prozedur verloren gegangen sind. Auch die nach dem Eindampfen der einzelnen Autolysate erhaltenen Werte erscheinen gegenüber den ursprünglichen Säurezahlen stark erhöht und zwar ist die größte Zunahme beim Eindampfrückstand des Autolysats von 3 Tagen festgestellt. Ein schließlich mit einem Autolysenversuch von 3 Tagen unter schonenderen Bedingungen, und zwar bei vermindertem Druck unternommener Versuch ergab, daß auch beim *Einengen des Leberextraktes am Wasserbad im Vakuum* die *Azidität auf mehr als das Doppelte* ansteigt. Beim Eindampfen derselben Autolysenflüssigkeit am Wasserbade unter gewöhnlichem Druck ergibt sich eine $2\frac{1}{2}$ -fache Zunahme. Die Ergebnisse dieser Versuche sprechen deutlich dafür, daß beim *Eindampfen von Leberauszügen bei höherer Temperatur*, sei es auch im *Vakuum*, *Säuren neugebildet werden*.

Wie ist nun diese Säurezunahme zu erklären? Beim Versuch, diese Frage zu lösen, wurde zunächst die *Möglichkeit einer Phosphorsäureneubildung* beim Eindampfen ins Auge gefaßt. Steht doch diese Säure unter den bei der Autolyse entstehenden an erster Stelle. Aus dieser Überlegung heraus führten wir in aliquoten Teilen des ursprünglichen frischen Leberauszuges vor und nach dem Einengen desselben *Phosphorsäurebestimmungen nach Embdens Strychninmolybdatmethode*¹ durch. Im folgenden finden sich die Resultate dieser Untersuchung.

100 g Kalbsleber enthalten Phosphorsäure in Grammen:

Vor dem Eindampfen des wässrigen Leberauszuges 0,2387
Nach dem Eindampfen des wässrigen Leberauszuges 0,2401

Es ist also auf Grund dieser Ergebnisse *keine Phosphorsäurezunahme nach dem Eindampfen* des Leberauszuges zu verzeichnen. Ferner erschien es von Interesse, das *Verhältnis von Gesamtstickstoff* und des nach *van Slyke bestimmbar*en *Aminostickstoffs* zu *Carboxyl* vor und nach

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 113, 138, 1921.

dem *Einengen* der Lösung zu untersuchen. Unter diesem Gesichtspunkt unterwarfen wir sowohl den Auszug einer frischen Leber als auch denjenigen eines Autolysats von 3 Tagen einer Untersuchung. Wir erhielten dabei folgende Resultate:

Tabelle III.
100 g Kalbsleber enthalten in Grammen:

	Ohne Autolyse			dreitägige Autolyse		
	COOH	Ges.-N	NH ₂ -N	COOH	Ges.-N	NH ₂ -N
Vor dem Eindampfen des wässerigen Leberauszuges	0,2593	0,2513	0,1078	0,5017	0,9022	0,7597
Nach dem Eindampfen des wässerigen Leberauszuges	0,5566	0,2328	0,0357	1,2685	0,8757	0,2736

Beim Betrachten der Ergebnisse der Untersuchung des frischen, nicht autolysierten Leberauszuges läßt sich folgendes feststellen: Die *Gesamtazidität* ist nach dem *Einengen* wieder auf mehr als das Doppelte angewachsen; der *Gesamt-N* hat sich bei diesem Vorgang fast gar nicht geändert, hingegen hat der nach van Slyke¹ ermittelte *Aminostickstoff* nach dem *Eindampfen* eine empfindliche Einbuße erlitten (Abnahme bis zu ein Drittel des ursprünglichen Wertes).

Bei der dreitägigen *Autolyse* ergibt sich folgendes Bild: Die gegenüber dem frischen Leberextrakt vermehrte *Gesamtazidität* steigt nach dem *Eindampfen* auf das 2¹/₂fache. Der *Gesamtstickstoff*, der im Vergleich zu demjenigen des frischen Leberauszuges auf beinahe das Vierfache angewachsen ist, ändert sich nach dem *Eindampfen* wenig. Der *Aminostickstoff* hingegen, der nach dreitägiger *Autolyse* gegenüber dem frischen Leberextrakt auf das Siebenfache gestiegen war, sinkt beim *Einengen* der Lösung auf ein Drittel. Diese sowohl nach dem *Eindampfen* des frischen als auch autolysierten Leberextraktes festgestellte auffallende Abnahme des nach van Slyke bestimmbaren *Aminostickstoffs* ließ zunächst an die Möglichkeit einer durch den *Eindampfvorgang* bewirkten *Desaminierung von Aminosäuren* denken. Zur Klärung dieser Frage wurden in einem frischen Leberextrakt *Ammoniakbestimmungen* nach der Durchlüftungsmethode von Folin² vor und nach dem *Einengen* der Lösung durchgeführt. Wir erhielten dabei folgende Ergebnisse.

100 g Kalbsleber enthalten Ammoniak in Grammen:

Vor dem Eindampfen des Leberauszuges	0,1751
Nach dem Eindampfen des Leberauszuges	0,1303

¹ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handb. d. Analyse 1924, S. 580. — ² Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 161, 1902/03.

Da bei diesem Versuch von einer Zunahme des freien Ammoniaks nach dem Eindampfen keineswegs die Rede sein kann, muß der Gedanke an eine *Desaminierung der Aminosäuren beim Eindampfen* von Leberauszügen am Wasserbad *fallengelassen werden*.

Zur weiteren Beleuchtung der Frage der Aziditätszunahme wurden in einem frischen Leberextrakt *Aminosäuren- und Polypeptidbestimmungen* nach *Willstätter* und *Waldschmidt-Leitz*¹, und zwar *wieder vor und nach dem Eindampfen* der Lösung unternommen. Gleichzeitig wurden in demselben Extrakt Bestimmungen der *Gesamtazidität*, des *Gesamtstickstoffs* und des nach *van Slyke* *bestimmbaren Aminosäurestickstoffs* durchgeführt. Die Tabelle IV zeigt die dabei gewonnenen Resultate.

Tabelle IV.

100 g Kalbsleber enthalten in Grammen:

	COOH (Y)	Gesamt-N	NH ₂ -N nach van Slyke	Titration nach Willstätter		(A+B) - Y
				in 90%ig. Alkohol (A)	in 40%ig. Alkohol (B)	
				COOH in g		
Vor dem Eindampfen des Leberauszuges	0,1867	0,2104	0,0520	0,2477	0,4881	0,5491
Nach dem Eindampfen des Leberauszuges	0,4458	0,2086	0,0152	0,0929	0,6419	0,2890

Die *Gesamtazidität (Y)* ist *nach dem Einengen* wieder auf mehr als das *Doppelte gestiegen*, der *Gesamtstickstoff* hat sich *nicht geändert*, der *Aminostickstoff* ist entsprechend den früheren Beobachtungen auf ein *Drittel gesunken*. Was nun die bei der Titration nach *Willstätter* und *Waldschmidt-Leitz* erhaltenen Werte betrifft, so darf nicht außer acht gelassen werden, daß diese *außer den Aminosäuren und Polypeptiden* noch die *Summe der anderen* im Leberextrakt enthaltenen *Säuren umfassen*. Es muß daher von der *Summe* der bei der Titration in 90%iger alkoholischer Lösung (A) und in 40%iger alkoholischer Lösung (B) erhaltenen, den Angaben *Willstätters* entsprechend umgerechneten und in *Gramm Carboxyl angeführten Zahlen* die durch *direkte Titration* des ursprünglichen wässrigen Auszuges erhaltene *Carboxylzahl (Y)* subtrahiert werden. Betrachtet man nun diesen so erhaltenen Wert *vor und nach dem Einengen* des Leberextraktes, so ergibt sich, daß *nach dem Eindampfen* die *Summe der Aminosäuren und Polypeptid-*

¹ Ber. 54, 2988, 1921.

carboxyle auf die *Hälfte gesunken ist*. Aus diesen letzten Versuchen geht eindeutig hervor, daß weder die *Aminosäuren noch die Polypeptide* für die beim Eindampfen von Leberextrakten beobachtete *Säurezunahme verantwortlich gemacht werden können*. Die Summe der Aminosäuren und Polypeptidcarboxyle erleidet vielmehr bei diesem Vorgang eine empfindliche Einbuße. Die *Möglichkeit der Bildung von inneren An-*

hydriden, etwa vom Typus
$$\begin{array}{c} \text{R} \\ | \\ \text{C} - \text{NH} \\ | \quad | \\ \quad \text{H} \quad \text{H} \\ | \\ \text{CO} \end{array}$$
, wäre hierbei nicht von der Hand

zu weisen.

Schließlich mußte nachgesehen werden, ob die beim Eindampfen von Leberextrakten *neugebildeten Säuren ätherlöslich seien*. Die zu diesem Zweck durchgeführte Ätherextraktion eines eingeeengten Leberauszuges im rotierenden *Lindtschen* Apparat ergab folgendes:

100 g Leber enthalten COOH in Grammen:

Azidität des wässrigen Leberextraktes	0,1811
Azidität dieses Extraktes nach dem Eindampfen am Wasserbad	0,4679
Azidität des Ätherextraktes von dem am Wasserbad eingedampften Leberauszug	0,0817

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß etwa *ein Fünftel der neugebildeten Säuren ätherlöslich ist*. Für den *beim Eindampfen* von Extrakten frischer Leber und von Leberautolysaten festgestellten *Aziditätszuwachs* konnte bisher keine befriedigende Erklärung gefunden werden, da derselbe weder durch *Milchsäure- noch durch Phosphorsäurezunahme* bedingt zu sein scheint. Ebenso wenig kann die Bildung saurer Komplexe durch Desaminierung höherer Aminosäuren in Betracht gezogen werden. Ferner ist die Menge der vorhandenen höheren Fettsäuren an sich viel zu gering, als daß sie zur Erklärung der auffallenden Säurezunahme beim Eindampfen herangezogen werden könnte. Es liegt wohl am nächsten eine *Neubildung saurer Produkte* auf Kosten des in der Leber sehr reichlich vertretenen *Glykogens bzw. Traubenzuckers* in Erwägung zu ziehen.

II. Über die Stickstoffverteilung in Leberextrakten.

Robbscheit, Robbms und *Whipple*¹ waren die ersten Autoren, welche bei entbluteten Hunden die Beobachtung machten, daß Rinderleber eine maximale Regeneration von Hämoglobin und roten Blutkörperchen bewirke. *Minot* und *Murphy*² stellten kurze Zeit darauf fest, daß große Gaben von Leber die Erythrocytenzahl in Fällen von perniziöser Anämie bedeutend

¹ Amer. J. of Physiol. 72, 408, 1925. — ² J. amer. med. Assoc. 87, 470, 1926; 89, 719, 1927.

vergrößern. Durch diese Beobachtung wurden *Edwin Cohn* und Mitarbeiter zum eifrigen Studium des Leberproblems angeregt, welches Studium eine große Anzahl interessanter Arbeiten zur Folge hatte¹. Nach *Ansicht der Autoren* wird das *antianämisch wirksame Prinzip der Leber* durch eine *stickstoffhaltige Substanz repräsentiert*. Bezüglich der Natur dieses stickstoffhaltigen Stoffes gehen die Meinungen der einzelnen Forscher ziemlich auseinander. Während *West* und *Howe*² zuerst der Ansicht waren, daß der wirksame Stoff der Leber ein Dipeptid aus β -Oxyglutaminsäure und Oxyprolin sei, konnten dieselben Autoren selbst in einer späteren Publikation³ zeigen, daß diese Behauptung unhaltbar sei. *Cohn* und Mitarbeiter vertreten in ihrer letzten diesbezüglichen Arbeit⁴ die Meinung, daß die *antianämisch wirksame Substanz nicht*, wie sie zuerst annahmen, eine *Aminosäure, sondern möglicherweise eine Pyrrol- oder Pyridinbase* sei. *Felix* und *Frühwein*⁵ heben ebenfalls hervor, daß der von ihnen dargestellte *antianämische Stoff stickstoffhaltig* sei, daß er durch Mercursulfat aus schwefelsaurer Lösung gefällt werden könne, aber sicherlich kein Peptid sei.

Die erwähnten Arbeiten von *Edwin Cohn* und seiner Schule gaben die unmittelbare Veranlassung zur Inangriffnahme der zu beschreibenden Untersuchungen. An eigens hergestellten *Leberauszügen* sollte vor allem eine *genaue Stickstoff-fraktionierung* vorgenommen werden. Mit kleinen Änderungen brachten wir hierbei die von *O. Fürth* und *Schwarz*⁶ für die Fraktionierung des Extraktivstickstoffs des Säugetiermuskels angegebene Methode zur Anwendung. Zur Untersuchung gelangten zwei selbst-angefertigte Leberauszüge, von denen der eine durch dreimaliges Auskochen, der andere durch fünfmaliges Auskochen von je 4 kg Leber mit Wasser gewonnen worden waren. Die jeweils hergestellten Extrakte wurden auf ein bestimmtes Volumen gebracht und stellten so die Ausgangssubstanz für die nachfolgenden Untersuchungen dar.

Nachdem der *Gesamtstickstoff* des jeweiligen Extraktes ermittelt worden war, wurde eine *Aufteilung in zwei Hauptfraktionen* vorgenommen, und zwar in einen durch *Phosphorwolframsäure* fällbaren und einen *nichtfällbaren Anteil*. Hierauf folgte eine *Aufteilung der beiden Hauptfraktionen*. Der *erste Hauptanteil* wurde in *albumosenartige Stoffe, Ammoniak, Purinkörper, Kreatinin und den Basenrest* fraktioniert. Im *Phosphorwolframsäurefiltrat*, der zweiten Hauptfraktion also, wurden *Kreatin, Harnstoff, Aminosäuren und die Polypeptide* ermittelt.

Was die *Methodik* anlangt, so wurde der *Gesamtstickstoff* mittels des *Mikro-Kjeldahl-Verfahrens* bestimmt. Der durch *Phosphorwolframsäure* fällbare *Gesamtbasenstickstoff* wurde nach *van Slyke*⁷ ermittelt. Bei der Aufteilung dieser ersten Hauptfraktion wurde so verfahren, daß zunächst in aliquoten Teilen des ursprünglichen Leberextraktes die *Albumosen*, d. i. der Anteil der kolloidalen aussalzbaren Eiweißderivate nach *Baumann*

¹ J. of biol. Chem. 74, 69, 1927; 77, 325, 1928; 87, 69, 1930; Amer. J. of Physiol. 90, 316, 1929. — ² J. of biol. Chem. 88, 427, 1930. — ³ Ebenda 94, 611, 1931. — ⁴ Ebenda 87, 69, 1930. — ⁵ Zeitschr. f. physiol. Chem. 216, 173, 1933. — ⁶ Diese Zeitschr. 30, 413, 1911. — ⁷ J. of biol. Chem. 10, 15, 1911; 22, 281, 1915.

und *Böhmer*¹, durch Zinksulfat ausgefällt wurden und im Niederschlag der Stickstoff zur Bestimmung gelangte. In einem anderen aliquoten Teil des Leberauszuges wurde eine *Ammoniakbestimmung* nach *Folin* (l. c.) durchgeführt. Hierauf folgte nach Beseitigung einiger störender Stoffe durch eine stark ammoniakhaltige Magnesiamixtur eine *Purinkörperbestimmung*, nach der etwas modifizierten Methode von *Arnstein*², wobei die Purine mittels einer ammoniakalischen Silberlösung abgeschieden werden. Die Bestimmung des *Kreatinins* erfolgte auf kolorimetrischem Wege nach *Folin*³. Die *Basenfraction* wurde auf *rechnerischem Wege* ermittelt, indem von dem durch *Phosphorwolframsäure* fällbaren *Gesamtbasenstickstoffwert* die *Summe* aus den *Stickstoffwerten der Albumosenfraction, des Ammoniaks, der Purinkörper und des Kreatinins* subtrahiert wurde. In dieser *Basenrestfraction* dürften Substanzen wie *Cholin, Methylguanidin, Cystin* und *Glutathion* enthalten sein. In der *zweiten Hauptfraction*, im Filtrat der durch *Phosphorwolframsäure* ausgefällten Basen, wurde nach Entfernung des überschüssigen Fällungsmittels durch Baryt zuerst der *Harnstoffstickstoff* mittels der *Xanthhydrolmethode* nach *Fosse*⁴ ermittelt. Im *harnstofffreien Filtrat* wurden die *Aminosäuren und Polypeptide* nach *van Slyke* bestimmt. Der *Kreatinstickstoffwert* wurde im ursprünglichen Leberextrakt nach erfolgter Hydrolyse

Tabelle V.

Stickstoffverteilung in Rindsleberauszügen.

	I. Versuch.		II. Versuch.		
	Dreimalige Auskochung von Rindsleber		Fünfmalige Auskochung von Rindsleber		
	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N	
Gesamt-Extraktiv-N	0,1612	100	0,2380	100	
Gesamt-Basen-N	0,0983	60,98	0,1344	56,47	
<i>I. Hauptfraction.</i>					
Phosphorwolframsäure-niederschlag	(Albumosen- Nukleoprotein)-N	0,0329	20,41	0,0522	21,93
	Ammoniak-N	0,0227	14,08	0,0180	7,56
	Purin-N	0,0035	2,17	0,0123	5,17
	Kreatinin-N	0,0051	3,16	0,0043	1,81
	(Basenrest-N	0,0341	21,15	0,0476	20,00
<i>II. Hauptfraction.</i>					
Phosphorwolframsäurefiltrat	(Kreatin-N	0,0035	2,17	0,0030	1,26
	Harnstoff-N	0,0082	5,09	0,0115	4,83
	Aminosäuren-N	0,0234	14,52	0,0306	12,86
	Polypeptid-N	0,0085	5,27	0,0136	5,71
	Unbest. Rest-N		11,98		18,87
	Summe:	100,—		100,—	

¹ Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußm. 1, 106, 1898. — ² Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 417, 1897. — ³ J. of biol. Chem. 17, 469, 1914. — ⁴ Anal. de Inst. Pasteur 30, 526, 1916; zit. nach *Thierfelder*, Handb. d. Anal. 1924, S. 701.

nach *Hahn* und *Barkan*¹, kolorimetrisch nach *Folin* ermittelt, indem von dem auf diesem Wege erhaltenen Gesamtkreatininwert (Kreatin + Kreatinin), der durch direkte Untersuchung des unhydrolysierten Leberextraktes gewonnene *Kreatininwert* abgezogen wurde. Durch entsprechende Umrechnung resultierte der *Kreatinstickstoffwert*. Die Resultate dieser einzelnen Untersuchungen finden sich in der Tabelle V.

Betrachtet man zunächst die Ergebnisse des *ersten Versuchs*, bei dem von einem durch dreimaliges Auskochen von 4 kg Leber gewonnenen Extrakt ausgegangen wurde, so zeigt sich folgendes: Der *Gesamtextraktivstickstoff* beläuft sich auf 0,16 g für 100 g Rindsleber und wird gleich 100 % gesetzt. Der weitaus *größte Teil* des *Gesamtextraktivstickstoffs* entfällt auf die *erste Hauptfraktion*, nämlich die mit *Phosphorwolframsäure fällbare Gesambasenfraktion* (rund 61 %). Unter diesen Basen nehmen die *albumosenartigen Stoffe* die erste Stelle ein (ein Drittel des Gesamtbasenstickstoffs) und werden nur schwach übertroffen vom Basenrest. Der Größenordnung nach folgt dann der *Ammoniakstickstoff*, während die *Purinkörper- und die Kreatininfraktion* fast gleich groß sind. Im *Phosphorwolframsäurefiltrat* entfällt unter den untersuchten Fraktionen der *größte Anteil* auf die *Aminosäuren*. Die *Polypeptid- und die Harnstofffraktion* gehören derselben Größenordnung an, der *Kreatinanteil* ist äußerst *gering*. In dieser *zweiten Hauptfraktion* bleibt ein *unbestimmter Rest* von rund 12% des *Gesamtextraktivstickstoffs* übrig. Beim Vergleich dieses Zahlenmaterials mit dem Ergebnis des *zweiten Versuchs*, dessen Ausgangsmaterial ein durch fünfmaliges Auskochen von 4 kg Rindsleber gewonnener Auszug bildete, fällt vor allem die Tatsache auf, daß der *Gesamtextraktivstickstoff* um fast ein Drittel gestiegen ist. Auch hier bildet die mit *Phosphorwolframsäure fällbare Gesamtfraktion* zahlenmäßig den *größten Anteil*. Der *Albumosenstickstoff* erscheint gegenüber dem des ersten Versuchs um eine Spur vermehrt, der *Basenreststickstoff* etwas *vermindert*. Hingegen ist der *Ammoniakstickstoff* auf die *Hälfte herabgesetzt*, der *Kreatininstickstoff* ist ebenfalls *stark vermindert*, der *Purinstickstoff* ist dagegen auf *mehr als das Doppelte gestiegen*.

In der *zweiten Hauptfraktion*, dem *Phosphorwolframsäurefiltrat*, hat sich numerisch gegenüber dem ersten Versuch *nicht viel geändert*. Die *Aminosäure- und Polypeptidanteile* haben kaum eine Verschiebung erfahren, die *Harnstofffraktion* ist fast identisch mit derjenigen des ersten Versuchs, lediglich der *Kreatinstickstoff* ist wesentlich gesunken. Der *unbestimmte Rest* ist hier *viel höher* und beträgt rund 19 % des *Gesamtextraktivstickstoffs*. Diesen Ergebnissen zufolge bietet die häufigere Extraktion der Leber keinerlei besonderen Vorteil.

In diesem Zusammenhang mögen einige Literaturangaben eine Berücksichtigung finden: *Kaplansky*² hat den *Gesamtextraktivstickstoff* von Hunde-

¹ Zeitschr. f. Biol. 72, 305, 1920. — ² Diese Zeitschr. 169, 245, 1928.

lebern mit 0,245% bestimmt, welcher Wert mit dem im Rahmen unseres zweiten Versuchs ermittelten gut in Einklang zu bringen ist. *Beker*¹ hat für 100 g Rindsleber einen Gesamtkreatininwert (Kreatin + Kreatinin) von 0,029 g gefunden, aus welcher Zahl sich 0,011 g Gesamtkreatininstickstoff für 100 g Rindsleber errechnen. Wir fanden in unserer ersten Versuchsanordnung einen Gesamtkreatininstickstoffwert von 0,008 g, im zweiten Versuch von 0,007 g für 100 g Rindsleber. *Gottlieb*² hat für 100 g Hundeleber einen Harnstoff-Stickstoffwert von 0,002 bis 0,012 g bestimmt, und *Burnton*³ findet in 100 g Katzenleber 0,006 g Harnstoff-Stickstoff. Die im ersten und zweiten Versuch dieser Arbeit für Harnstoff-Stickstoff erhaltenen Zahlen von 0,008 bis 0,012 g für 100 g Rindsleber gehören derselben Größenordnung wie die Literaturangaben an.

Zur näheren Charakterisierung der ersten Hauptfraktion wurde aus jedem der beiden Leberextrakte die nach der Entfernung der Albumosen- und Ammoniakfraktion hinterbleibenden Stoffe mit Phosphorwolframsäure nach *van Slyke* ausgefällt und der Niederschlag vorschriftsgemäß mit Amylalkohol und Äther zerlegt. In der so erhaltenen Fraktion wurde zunächst der Gesamtstickstoff und hierauf der Aminosäuren- und Polypeptidstickstoff bestimmt. In einem anderen Teil dieser Basen-

Tabelle VI.

Durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanzen (Fraktion A) nach Entfernung des Nucleoproteid- und Ammoniakanteils. Bestimmung des Gesamt-, NH₂- und Polypeptid-N.

	I. Versuch.		II. Versuch.	
	Dreimalige Auskochung von Rindsleber		Fünfmalige Auskochung von Rindsleber	
	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N
Gesamt-N	0,0495	100	0,0722	100
Aminosäuren-N (nach <i>van Slyke</i>)	0,0065	13,13	0,0104	14,41
Polypeptid-N (nach <i>van Slyke</i>) .	0,0150	30,30	0,0213	29,50

Verseifung der Fraktion A mit 30% Lauge.

	I. Versuch.		II. Versuch.	
	Dreimalige Auskochung von Rindsleber		Fünfmalige Auskochung von Rindsleber	
	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N	100 g Rindsleber enthalten in g	% des Gesamt-N
Gesamt-N	0,0495	100	0,0722	100
Trimethylamin-N	0,0042	8,49	0,0075	10,39
Methylamin-N	0,0008	1,62	0,0057	7,89
Ammoniak-N	0,0154	31,11	0,0154	21,33

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 21, 1913. — ² Arch. f. exper. Pathol. 42, 238, 1899. — ³ Arch. des sc. biol. 11, 258, 1906.

fraktion wurde eine *Verseifung mit 30%iger Lauge* nach *Kapeller-Adler* und *Krael*¹ durchgeführt. Die hierbei entstehenden flüchtigen Basen wurden in einer Vorlage mit doppeltnormaler Salzsäure aufgefangen, das Destillat am Wasserbad eingeeengt und die resultierenden Basenchlorhydrate mittels heißen Chloroforms fraktioniert. Der *chloroformlösliche Anteil* wurde als *Trimethylaminchlorhydrat* erkannt, der *chloroformunlösliche* bestand aus einem *Gemenge von Salmiak und Methylaminchlorhydrat*. Der *Methylamingehalt* dieses Gemenges wurde indirekt durch eine *Methylimidbestimmung nach Pregl* in einem von *Friedrich*² modifizierten Apparat bestimmt. In der Tabelle VI bringen wir die Ergebnisse dieser Untersuchung.

Beim Betrachten dieser Tabelle ergibt sich folgendes: Die *Polypeptidfraktion* ist in beiden Versuchsreihen annähernd gleich und beträgt rund 30% des Gesamtstickstoffs der nach obiger Vorschrift isolierten Basen. Der *Aminosäureanteil* beläuft sich im ersten Versuch auf 13%, im zweiten Versuch auf 14% des Gesamtstickstoffs. Die *Polypeptidfraktion* dürfte vor allem das *Glutathion* enthalten, das ja in der Leber in so reichlichem Maße vorhanden ist. So enthält nach *Tunncliffe*³ die Katzenleber 0,22 bis 0,35% und die Rattenleber 0,16 bis 0,21% Glutathion.

Was nun die bei der Verseifung mit starker Lauge der in obiger Versuchsanordnung gewonnenen Basen erzielten Resultate anlangt, so beträgt der *Trimethylaminstickstoff im ersten Versuch* 8%, im *zweiten Versuch* 10% des *untersuchten Gesamtbasenstickstoffs*. Während der *Methylaminstickstoff* sich im *ersten Versuch* auf rund 2% des Gesamtstickstoffs beläuft, erscheint er im *zweiten Versuch* fast auf das *Vierfache erhöht*. Da das bei der *Verseifung neu gebildete Ammoniak* vollkommen *unspezifisch* ist und keinerlei Rückschlüsse gestattet, findet es hier keine Berücksichtigung.

Das bei der geschilderten Verseifung gebildete *Trimethylamin* dürfte dem *Cholin* entstammen. *Smorodinzew*⁴ konnte nämlich feststellen, daß das für den Muskel so charakteristische Trimethylaminderivat, das *Carnitin*, in der *Leber vollkommen fehlt*. Der *Cholingehalt der Leber* ist von *Smorodinzew* ermittelt worden, aus dem von ihm gefundenen Werte errechnen sich 0,008 g Cholinstickstoff für 100 g Leber. *Strack*⁵ hat frische Rindsleber sofort nach dem Tode der Tiere und 5 bis 6 Stunden später untersucht und schließt auf Grund der Ergebnisse seiner Versuche, daß in der *lebensfrischen Leber* nahezu *kein freies Cholin bzw. Acetylcholin auftritt*. Nach der Unterbrechung der

¹ Diese Zeitschr. 221, 437, 1930. — ² Mikrochem., 7. Jahrg., 1, 195, 1929. — ³ Biochem. J. 19, 194, 1925. — ⁴ Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 218, 1912. — ⁵ Ebenda 220, 217, 1933.

Blutzufuhr steigt der Gehalt an freiem Cholin besonders in der ersten und nach der vierten Stunde an. Aus den Cholinchloridwerten des Autors, welche er in der Rindsleber 5 bis 6 Stunden nach dem Tode des Tieres ermittelt hat, errechnet sich ein Trimethylaminstickstoffgehalt von 0,002 bis 0,008 g für 100 g Leber. Der im Verlauf unserer Arbeit bestimmte Trimethylaminstickstoffwert stimmt also sowohl mit den Beobachtungen von *Smorodinzew* als auch mit denjenigen von *Strack* überein.

Was den *Ursprung* des untersuchten *Methylamins* betrifft, so dürfte dieses dem *Methylguanidin* entstammen. *Kreatinin* kann als Stammsubstanz nicht in Erwägung gezogen werden, da es bei der Verseifung mit starken Alkalien bloß Ammoniak, aber kein Methylamin abspaltet¹. Tatsächlich hat auch *Smorodinzew* Methylguanidin, wenn auch in sehr geringer Menge, aus der Leber isolieren können.

Eine besondere Berücksichtigung verdient weiter jene *Fraktion der kolloidalen aussalzbaren Eiweißderivate*, welche in der Tabelle V unter dem Namen *Albumosenfraktion* angeführt ist. Die nähere Untersuchung der in dieser Fraktion enthaltenen Substanz ergab nämlich, daß diese vollkommen identisch ist mit dem von *Wohlgemuth*² und *Scaffidi*³ aus Rinds- und Schweineleber dargestellten Nucleoproteid. Diese Verbindung zeichnet sich dadurch aus, daß sie aus wässrigen Leberauszügen durch Essigsäure oder Weinsäure gefällt wird und in Natriumcarbonat und Ammoniak löslich ist. Das von *Wohlgemuth* dargestellte Nucleoproteid enthält 16,67 % Stickstoff, dasjenige von *Scaffidi* 12,2 %. Versetzt man nun einen aliquoten Teil des im Verlauf der vorliegenden Arbeit hergestellten Leberauszuges an Stelle von Zinksulfat mit Essigsäure, so entsteht derselbe flockige Niederschlag wie bei der Zinksulfatfällung. Aus dem Filtrat des mit Essigsäure gefällten Körpers konnte mit Zinksulfat nichts mehr niedergeschlagen werden. Andererseits vermochte auch Essigsäure in dem Filtrat des mit Zinksulfat erzeugten Niederschlags keine Fällung zu erzeugen. Einige an der isolierten Verbindung durchgeführte Stickstoffbestimmungen ergaben einen Wert von 12,32 bis 12,61 %, welche Zahlen vollkommen identisch mit den von *Scaffidi* angeführten sind. Dieses Nucleoproteid wurde hydrolysiert und das Hydrolysat auf einen etwaigen Gehalt an cyclischen Aminosäuren geprüft. Es konnte nur *Tyrosin* und *Phenylalanin* nachgewiesen werden. Die nach *Fürth* und *Fischer*⁴ durchgeführte Tyrosinbestimmung lieferte 3,28 % Tyrosin,

¹ *Neubauer*, Ann. 137, 289, 294, 1866; *Kapeller-Adler* u. *Krael*, diese Zeitschr. 221, 437, 1930. — ² Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 475, 1902/03; 42, 519, 1904. — ³ *Ebenda* 58, 272, 1908. — ⁴ Diese Zeitschr. 154, 1, 1924.

die Phenylalaninbestimmung nach *Kapeller-Adler*¹ ergab 1,08 % Phenylalanin. *Histidin* war in dem Hydrolysat *nicht nachweisbar*. Auf *Tryptophan* konnte *nicht geprüft werden*, weil dieses bekanntlich bei saurer Hydrolyse zerstört wird.

III. Untersuchung von antianämisch wirksamen Leberpräparaten.

Über die chemische Natur der antianämisch wirksamen Substanz in den Leberpräparaten sind die Meinungen sehr geteilt. Von allen Autoren wird jedoch hervorgehoben, daß sämtliche wirksamen Präparate Stickstoff enthalten und daß eine gewisse Parallelität zwischen dem Stickstoffgehalt und der Wirksamkeit zu beobachten ist. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene im Handel erhältliche, antianämisch wirksame Leberpräparate einer Stickstofffraktionierung unter denselben Gesichtspunkten unterworfen wie die oben beschriebenen selbstangefertigten Leberauszüge. Zur Untersuchung gelangten: das „Hepatopson“² (Promonta), das „Campolon“² (I. G. Farben A.-G.), das „Pernaemon (Dewewop) und der „Leber-

Tabelle VII.

Antianämisch wirksame Leberpräparate. Stickstoffverteilung.

	Hepatopson enthält in %	Campolon enthält in %	Pernaemon enthält in %	Leber- extrakt 343 enthält in %	
Gesamt-N	100	100	100	100	
Gesamt-Basen-N	48,16	49,65	59,85	64,86	
<i>I. Hauptfraktion.</i>					
Phosphor- wolfram- säure- niederschlag	{ Albumosen- (Nucleoproteid)-N	18,72	12,18	18,26	20,61
	{ Ammoniak-N	15,04	34,93	19,71	35,50
	{ Purin-N	0,79	2,17	3,63	—
	{ Kreatinin-N	1,89	0,41	7,76	3,05
	{ Basenrest-N	11,72	—	10,49	5,70
<i>II. Hauptfraktion.</i>					
Phosphor- wolfram- säurefiltrat	{ Kreatin-N	—	—	—	—
	{ Harnstoff-N	—	—	—	—
	{ Aminosäuren-N	7,99	8,19	20,20	21,07
	{ Polypeptid-N	21,14	38,03	10,25	2,83
	{ Unbest. Rest-N	22,71	4,09	9,70	11,24
Summe:	100,—	100,—	100,—	100,—	

¹ Diese Zeitschr. 252, 185, 1932. — ² Für die Überlassung des „Hepatopsons“ sind wir Herrn Dr. *Pirk* (Generalvertreter der Chem. Fabrik Promonta G. m. b. H. in Wien) und für diejenige des „Campolons“ der Leitung der „Vedepha“ (I. G. Farbenindustrie A.-G.) zu großem Dank verpflichtet.

extrakt 343“ (Eli Lilly & Co.), welches letzteres Präparat nach der Vorschrift von *E. Cohn* hergestellt wird. Die Präparate lagen teils in Lösung, teils in fester Form vor, in letzterem Fall wurde das Pulver in wässrige Lösung gebracht. Zunächst wurde in aliquoten Teilen der *Gesamtstickstoff* bestimmt und *gleich 100 gesetzt*. Hierauf führten wir die schon oben genau beschriebene *Stickstoff-fraktionierung* durch. In der Tabelle VII finden wir die gesamten Untersuchungsergebnisse zusammengefaßt.

In allen untersuchten Präparaten beläuft sich der *Gesamtbasenstickstoff* ähnlich wie bei den von uns selbst hergestellten Leberauszügen auf rund *50 bis 60 % des Gesamtstickstoffs*. Der *Nucleoproteidgehalt* macht allenthalben etwa *ein Drittel der Gesamtbasenfraktion* aus. Auch diese Beobachtungen stimmen gut mit unseren früheren, bei der Untersuchung der von uns selbst angefertigten Leberextrakte gemachten überein. Auffallend ist der *hohe Ammoniakstickstoffgehalt* der einzelnen Präparate. Dieser Wert erreicht beim „Campolon“ und beim „Leberextrakt 343“ *35 % des Gesamtstickstoffs*. Was den Gehalt an *Purinkörpern* anlangt, so enthält das Präparat „343“ *gar keine Purine*, das „Hepatopson“ *nur sehr wenig*, dagegen erhielten wir beim „Campolon“ und beim „Pernaemon“ analoge Purinstickstoffwerte wie bei den von uns hergestellten Leberextrakten. Die *Kreatininwerte* sind je nach dem Präparat *äußerst verschieden* (0,41 bis 7,76 % Kreatininstickstoff). Auch die *Basenreststickstofffraktion* *differiert* sehr. Während das „Campolon“ *gar keinen Basenreststickstoff* enthält, schwankt dieser bei den einzelnen Präparaten zwischen 6 und 12 %. Bei allen untersuchten Präparaten *fehlte die Kreatin- und Harnstofffraktion* völlig. Bezüglich der *zweiten Hauptfraktion* dieser Handelspräparate kann festgestellt werden, daß der *Aminosäurenstickstoffanteil* beim „Hepatopson“ und beim „Campolon“ *rund 8 %*, beim „Pernaemon“ und beim „Leberextrakt 343“ *hingegen 20 und 21 %* beträgt. Die *Polypeptide* wurden bei den erwähnten Präparaten im umgekehrten Verhältnis gefunden. So enthält das „Hepatopson“ *21 %*, das „Campolon“ *38 % Polypeptidstickstoff*, das „Pernaemon“ *hingegen nur 10 %* und das Präparat „343“ *gar nur 3 % Polypeptidstickstoff*. Der *unbekannte Reststickstoff* ist von Präparat zu Präparat verschieden (4 bis 23 %). Zusammenfassend muß nun hervorgehoben werden, daß die bei den einzelnen Präparaten *erzielten Resultate* viel zu *wenig einheitlich* sind als daß *Anhaltspunkte* für das *Vorhandensein des anti-anämisch wirksamen Stoffes* in einer der beschriebenen Fraktionen hätte gewonnen werden können. Der *hohe Ammoniakstickstoffgehalt* der Präparate deutet vor allem darauf hin, daß der *Reinheitsgrad* dieser Extrakte noch ein *sehr mangelhafter* ist. Späteren Untersuchungen

wird es vorbehalten bleiben, dieses noch so ungewisse Problem der chemischen Beschaffenheit der antianämisch wirksamen Leberpräparate zu klären.

Zusammenfassung.

1. In Auszügen von *frischer Kalbsleber* und von *Leberautolysaten* wurden die *Aziditätsverhältnisse* genau studiert. Die *Gesamtazidität* eines *frischen Kalbsleberextraktes* beträgt 0,2% (in Carboxyl ausgedrückt). Mit *steigender Autolyse* nimmt die *Gesamtazidität* zu. Der *vierte Teil* dieser Säuren geht in *ätherische Lösung*. Eine Aufteilung dieser ätherlöslichen Säuren wurde durchgeführt. In einer Tabelle finden sich die gesamten Ergebnisse dieser Untersuchungen.

2. Wird ein wässriger Extrakt einer frischen oder autolysierten Leber am Wasserbad *im Vakuum* oder *bei Atmosphärendruck* *eingengt* und die *Azidität dieses Extraktes vor und nach dem Eindampfen* bestimmt, so zeigt es sich, daß *beim Einengen Säuren neu gebildet* werden. Die *Aziditätszunahme nach dem Eindampfen* beläuft sich auf das *Doppelte bis Dreifache* des ursprünglichen Leberauszuges und ist beim Einengen unter vermindertem Druck etwas geringer als beim Eindampfen unter normalem. Nur *ein Fünftel* der bei diesem Prozeß *entstandenen Säuren* ist *ätherlöslich*. Die *Säurezunahme* wird *weder durch Neubildung von Phosphorsäure* noch *von Aminosäuren* oder *Polypeptiden* verursacht. Auch die Bildung *saurer Komplexe* durch *Desaminierung* höherer Aminosäuren kommt nicht in Frage. Vermutlich handelt es sich bei dieser Aziditätszunahme um die *Bildung saurer Verbindungen auf Kosten* des in der Leber so reichlich vertretenen *Glykogens* bzw. *Traubenzuckers*.

3. Weiter wurde beobachtet, daß *beim Einengen* von Leberextrakten frischer oder autolysierter Leber der nach *van Slyke* *bestimmbare Aminostickstoff* eine *Einbuße auf ein Drittel* seines ursprünglichen Wertes erleidet. Die *Summe des Aminosäurenpolypeptidcarboxyls* sinkt ebenfalls *nach dem Eindampfen* des Leberauszuges auf die Hälfte. Möglicherweise kommt es hierbei zur *Bildung von inneren Anhydriden*.

4. Die bei der *Stickstofffraktionierung* nach *Fürth* und *Schwarz* an zwei selbstangefertigten Rindsleberextrakten erzielten Resultate finden sich in einer Tabelle zusammengefaßt. Es wurden *zwei Hauptfraktionen*, eine mit *Phosphorwolframsäure fällbare* und eine *nichtfällbare* unterschieden. In der *ersten Hauptfraktion* wurde der Gehalt an *Albumosen-, Ammoniak-, Purin-, Kreatinin- und Basenreststickstoff* bestimmt, in der *zweiten* der *Kreatin-, Harnstoff-, Aminosäuren- und Polypeptidstickstoff* ermittelt.

5. Weiter wurde *jener Basenanteil*, welcher die durch *Phosphorwolframsäure fällbare Fraktion* nach *Eliminierung des Nucleoproteids*

und Ammoniak enthält, einer näheren Untersuchung unterworfen. In dieser Fraktion wurde der Aminosäuren- und Polypeptidstickstoff nach van Slyke bestimmt, ferner der Gehalt an flüchtigen Basen, wie Methyl- und Trimethylamin, welche bei der Verseifung mit 30 %iger Lauge entstehen, ermittelt. Auch diese Werte finden sich in einer Tabelle.

6. Es wurde ferner festgestellt, daß der ursprünglich als Albumosenfraktion bezeichnete Anteil hauptsächlich das schon von Wohlgemuth und Scaffidi dargestellte Nucleoprotein enthält. Untersuchungen an dieser Substanz ergaben einen Tyrosingehalt von 3,28 % und einen Phenylalaninwert von 1,08 %. Histidin konnte nicht nachgewiesen werden.

7. Schließlich wurde eine Stickstofffraktionierung an einigen anti-anämisch wirksamen Handels-Leberpräparaten wie „Hepatopson“, „Camolon“, „Pernaemon“ und „Leberextrakt 343“ durchgeführt. In einer ausführlichen Tabelle finden sich die diesbezüglichen Ergebnisse.

8. Diese Resultate erlauben, da sie je nach dem Präparat ganz außerordentlich different sind, keinerlei Schlußfolgerung bezüglich der chemischen Beschaffenheit des anti-anämisch wirksamen Prinzips in diesen Leberpräparaten.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Akiji Fujita und Takeshi Kodama . Untersuchungen über Atmung und Gärung pathogener Bakterien. I. Mitteilung: Bestimmung der Stoffwechselquotienten pathogener Bakterien	367
A. W. Blagowestschenski und T. A. Schubert . Bestimmung einiger Aminosäuren im Globulin der Sonnenblumensamen	375
Otto Fürth , Harald Minnibeck und Emil Edel (unter Mitwirkung von Eduard H. Majer und Herbert Reisner). Die Rolle der Citronensäure im Kohlenhydratstoffwechsel	379
Regine Kapeller-Adler und Anita Luisada . Über Extraktivstoffe der Leber	397
E. Werle . Zur Kenntnis des Haushalts des Kallikreins	415
E. Werle und P. Eekey . Vergleichende Untersuchung über Kallikrein- und Trypsinkonzentration im menschlichen Duodenalsaft	435
Maria Kobel und Carl Neuberg . Zur Frage des Auftretens von Triose beim desmolytischen Hexosenabbau	441
Hans Gaffron . Über die Kohlensäure-Assimilation der roten Schwefelbakterien. I.	447

Fortschritte der Botanik

Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen herausgegeben von
Fritz von Wettstein, Professor an der Universität München.

Erster Band: Bericht über das Jahr 1931.

Mit 16 Abbildungen. **VI**, 263 Seiten. 1932. RM 18.80

Inhaltsübersicht: **Morphologie**: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte**: Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmischer, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels**: Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Der Wasserumsatz in der Pflanze. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Stoffwechsel I. Allgemeiner Stoffwechsel. Von Professor Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Stoffwechsel II. Heterotrophe und Spezialisten. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung**: Wachstum und Bewegungserscheinungen. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. — Entwicklungsgeschichte. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von W. Schwarz, Darmstadt.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

Zweiter Band: Bericht über das Jahr 1932.

Mit 37 Abbildungen. **IV**, 302 Seiten. 1933. RM 24.—

Inhaltsübersicht: **Morphologie**: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Privatdozent Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll, Halle a. d. S. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Dr. L. A. Schlösser, München. — **Systemlehre und Stammesgeschichte**: Systematik. Von Professor Dr. Joh. Mattfeld, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik. Von Professor Dr. M. Hirmer, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. E. Irmischer, Hamburg. — **Physiologie des Stoffwechsels**: Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Privatdozent Dr. E. Bünning, Jena. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. K. Höfler, Wien. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Von Professor Dr. B. Huber, Darmstadt. — Mineralstoffwechsel. Von Privatdozent Dr. K. Pirschele, München. — Stoffwechsel organischer Verbindungen. Von Privatdozent Dr. K. Mothes, Halle a. d. S. — Mikrobiologie des Bodens. Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — Oekologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart. — **Physiologie der Organbildung**: Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. von Guttenberg, Rostock i. M. — Vererbung. — Entwicklungsgeschichte. Von Professor Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br. (Unter Mitwirkung von A. Köckemann, Freiburg i. Br.) — Anhang: Oekologie. Von Privatdozent Dr. Th. Schmucker, Göttingen. — Sachverzeichnis. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Chemie der organischen Farbstoffe

Von **Professor Dr. Fritz Mayer**

Soeben erschien in dritter, umgearbeiteter Auflage:

Erster Band: **Künstliche organische Farbstoffe.**

Mit 5 Abbildungen. IV, 255 Seiten. 1934. RM 23.60; gebunden RM 24.80

Das bekannte Werk erscheint in völlig neubearbeiteter Form in dritter Auflage in zwei Bänden. Der erste Band enthält nur noch die künstlichen organischen Farbstoffe, während die natürlichen Farbstoffe in einer etwas breiteren und vor allem lückenlosen Darstellung in dem zweiten übers Jahr erscheinenden Band zusammengefaßt werden. In den 10 Jahren seit Erscheinen der letzten Auflage war der Fortschritt der Wissenschaft und Technik groß. Dementsprechend konnten in dem Abschnitt Azofarbstoffe die Chromierfarbstoffe, die Pigmentfarbstoffe und die Naphthol-AS-Farbstoffe stärker berücksichtigt werden. Bei den Cyaninfarbstoffen für photographische Zwecke ließ sich auf Grund der zahlreichen die Konstitution der Farbstoffe betreffenden Arbeiten eine umfassende Darstellung des interessanten Gebietes geben. Die wertvollen Arbeiten über die Konstitution der Schwefelfarbstoffe sind in vollem Umfange berücksichtigt worden. Endlich ist der Abschnitt über Anthrachinonfarbstoffe von Grund auf umgestaltet worden. Er enthält u. a. erstmals die Theorie des Reaktionsmechanismus der Bohn-Schmidtschen Reaktion und ferner eine erschöpfende Übersicht über die Küpenfarbstoffe.

Chemiker-Kalender 1934. Ein Hilfsbuch für Chemiker, Physiker, Mineralogen, Hüttenmänner, Industrielle, Mediziner und Pharmazeuten. Begründet von Dr. Rudolf Biedermann. Fortgeführt von Professor Dr. W. A. Roth. Herausgegeben von Professor Dr. **I. Koppel.** 55. Jahrgang. 1934. Drei Teile in zwei Bänden gebunden RM 20.—

Erster Teil: Taschenbuch. VIII, 56 Seiten und 119 Seiten.

Zweiter Teil: Dichten. Löslichkeiten. Analyse. Mit zahlreichen Figuren im Text. IV, 737 Seiten.

Dritter Teil: Theoretischer Teil. Mit zahlreichen Figuren und 1 Tafel. VI, 622 Seiten.

Die bewährte Gliederung des Kalenders in drei Teile, die in zwei Ganzleinenbände gebunden sind, ist auch für das Jahr 1934 beibehalten worden. Verbesserungen und Ergänzungen haben den Kalender wieder auf den neuesten Stand gebracht, so daß er für den Praktiker wie für den Wissenschaftler das bewährte ausgezeichnete Auskunftsmittel bleibt, das ein schnelles, zuverlässiges und kritisches Arbeiten ermöglicht. Der Kalender bildet durch seine umfangreichen Tabellen aus allen Gebieten chemischer Forschung, durch seine Arbeitsvorschriften (besonders auch für analytische und technisch-chemische Untersuchungen) sowie durch seine theoretischen Erläuterungen ein vorzügliches, nie versagendes Nachschlagewerk. Mit bemerkenswerter Umsicht hat der Herausgeber nicht nur den Inhalt des Kalenders modernisiert, sondern ihn wieder durch bisher noch nicht berücksichtigte Gebiete erweitert, u. a.: Korrosion der Metalle — Toxikologisch-chemische Untersuchungen — Bildungswärmen organischer Stoffe — Röntgenstrahlenbeugung in Molekeln und Kristallen — Schmelzen, Erstarren, Verdampfen, Sieden — Metallographie — Geochemie — Chemische Industrie Japans — Sprengstoffe und Zündmittel. Vollständig neu bearbeitet wurde der Abschnitt Spektralanalyse. Von älteren Abschnitten, die 1933 vorübergehend gefehlt haben, wurden wieder aufgenommen: Keramik — Ätherische Öle — Zucker.

Verlag von Julius Springer in Berlin

Biochemische Zeitschrift

Begründet von C. Neuberg

Unter Mitwirkung von

E. Abderhalden - Halle a. d. S., M. Ascoli - Palermo, L. Asher - Bern, A. Bach - Moskau, G. Barger - Edinburgh, M. Bergmann - New York, G. Bertrand - Paris, A. Bickel - Berlin, Fr. Boas - München, J. Bodnár - Debreczen, A. Bonanni - Rom, F. Bottazzi - Neapel, G. Bredig - Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch - Moskau, T. Chrząszcz - Posen, R. Doerr - Basel, A. Durig - Wien, R. Ege - Kopenhagen, H. v. Euler - Stockholm, M. Ferreira de Mira - Lissabon, H. Fink - Berlin, S. Flexner - New York, J. Forssman - Lund, O. Fürth - Wien, E. Hammarsten - Stockholm, F. Hayduck - Berlin, E. Hägglund - Stockholm, V. Henri-Lüttich, V. Henriques - Kopenhagen, K. Hess - Berlin, W. Heubner - Berlin, P. Karrer - Zürich, G. Klein - Heidelberg, W. Klein - Bonn, A. J. Kluyver - Delft, M. Kochmann - Halle a. d. S., H. Kraut - Dortmund, R. Krimberg - Riga, O. Lemmermann - Berlin, P. A. Levene - New York, K. Lohmann - Heidelberg, H. Lüers - München, Th. Madsen - Kopenhagen, E. Mangold - Berlin, L. Marchlewski - Krakau, A. McKenzie - Dundee, Kurt H. Meyer - Genf, O. Meyerhof - Heidelberg, L. Michaelis - New York, H. Molisch - Wien, W. Nernst - Berlin, K. Noack - Berlin, C. v. Noorden - Wien, Orla - Jensen - Kopenhagen, W. Ostwald - Leipzig, A. Palladin - Charkow, J. K. Parnas - Lemberg, W. Pauli - Wien, W. H. Peterson - Madison, R. Pfeiffer - Breslau, E. P. Pick - Wien, J. Pohl - Hamburg, D. N. Prianischnikow - Moskau, St. J. von Przytycki - Warschau, A. Rippel - Göttingen, H. Sachs - Heidelberg, T. Sasaki - Tokio, B. Sbarsky - Moskau, A. Scheunert - Leipzig, E. Schmitz - Breslau, S. P. L. Sörensen - Kopenhagen, H. Steenbock - Madison, J. Stoklasa - Prag, W. Straub - München, U. Suzuki - Tokio, K. Thomas - Leipzig, F. Verzár - Basel, A. I. Virtanen - Helsingfors, O. Warburg - Berlin, H. J. Waterman - Delft, G. v. Wendt - Helsingfors, E. Widmark - Lund, N. Zelinsky - Moskau

herausgegeben von

W. Grassmann

Dresden

Sonderabdruck aus 285. Band, 1.—2. Heft

Regine Kapeller-Adler und Georg Boxer:

**Über arsenhaltige Azoproteine und über die Kuppelungs-
fähigkeit von Phenylalanin, Tryptophan, Prolin
und Oxyprolin mit Diazobenzolarsinsäure**



Berlin

Verlag von Julius Springer

1936



Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen: Je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 28.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Kurze Mitteilungen wichtigen Inhalts können außerhalb der Reihenfolge des Einlaufdatums abgedruckt werden, wenn sie den Raum von 1—2 Druckseiten nicht überschreiten. — Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptendungen sind an den Herausgeber:

Herrn Prof. Dr. W. Grassmann, Dresden 24, Wielandstraße 2,

zu richten.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Autoren erhalten eine *Fahnenkorrektur*. Revisionen können nur ausnahmsweise verfolgt werden und verursachen oft eine Zurückstellung der Mitteilung. Auf Wunsch der in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeiter wird die Korrektur ihrer Abhandlung hier gelesen, wodurch ein beschleunigtes Erscheinen ermöglicht wird.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von RM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstalle RM 30.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten 40 Sonderdrucke unentgeltlich. Weitere 40 Exemplare werden, falls bei Rücksendung der 1. Korrektur bestellt, gegen eine angemessene Entschädigung geliefert. Darüber hinaus gewünschte Exemplare müssen zum gleichen Preise berechnet werden, den die Arbeit im Heft kostet, da die umfangreiche Versendung von Sonderdrucken den Absatz der Zeitschrift schädigt. Dissertations-exemplare werden von der Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht geliefert.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 22/24.

285. Band

Inhaltsverzeichnis

1.—2. Heft

	Seite
Brill, Josef. Über Senkung der Körpertemperatur bei Vögeln nach Einverleibung pyrogenen Stoffe	1
Allers, Rudolf und Josef Brill. Über das Verhalten des Blutzuckers bei Tauben unter der Einwirkung einiger zentral angreifender Gifte	6
Hatakeyama, Tatsuo. Über eine bisher nicht beschriebene experimentelle Hyperlipämie bei Kaninchen, zugleich ein Beitrag zur Erkenntnis der Genese der Aderlaßlipämie	11
Störmer, Inge. Follikelhormon und Blühtermin von Chrysanthemem	29
Lieben, Fritz und Hans Jesserer. Studien zur Biuretreaktion der Proteine	36
Chrzaszcz, Tadeusz und Józef Janicki. Über die Vermehrung der aktiven Amylase-menge im ungekeimten Getreide durch Schwefelwasserstoff und Papain	47
Kapeller-Adler, Regine und Georg Boxer. Über arsenhaltige Azoproteine und über die Kuppelungsfähigkeit von Phenylalanin, Tryptophan, Prolin und Oxyprolin mit Diazobenzolarsinsäure	55
Maurer, Kurt und Bruno Schiedt. Das Verhalten der d-Araboascorbinsäure und des Vitamins C gegenüber Ferrosalzen	67
D'Alessandro, G. und S. Petrucci. Über den Einfluß einiger Fettsäuren auf die Blutglykolyse	72
Eisler, B., K. G. Rosdahl und H. Theorell. Über die Mikrobestimmung des Kupfers mit Hilfe der lichtelektrischen Photometrie	76
Lüdtke, Max. Zur Frage des Säurecharakters der Cellulose; zugleich eine Mitteilung über Oxydationsvorgänge an Membranstoffen	78
Wenig, Karel und Jiří Joachim. Der Einfluß des Insulins auf den Lymphzuckerspiegel bei der Seidenraupe (<i>Bombyx mori</i>)	98

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Über arsenhaltige Azoproteine und über die Kuppelungsfähigkeit von Phenylalanin, Tryptophan, Prolin und Oxyprolin mit Diazobenzolarsinsäure.

Von

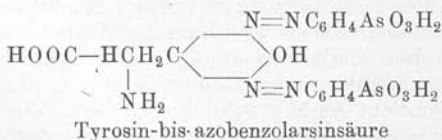
Regine Kapeller-Adler und Georg Boxer.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien.)

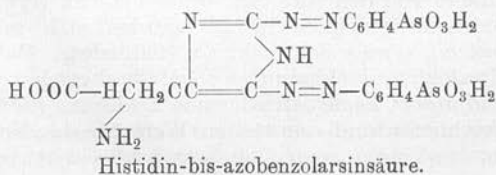
(Eingegangen am 13. Februar 1936.)

Werden Eiweißkörper mit diazotierter Arsanilsäure umgesetzt, so erhält man ein farbiges Reaktionsprodukt, und zwar ein arsenhaltiges Azoprotein, das nach den grundlegenden Arbeiten von *Landsteiner*¹ die Eigenschaften eines Antigens zeigt. Immunisiert man nämlich Tiere mit diesem Antigen, so werden Antikörper gebildet, welche entsprechend den Untersuchungen *Landsteiners* eine spezifische Affinität zur aromatischen arsenhaltigen Gruppe besitzen.

Die Reaktion der Proteine mit Diazokörpern hat *Pauly*² als erster studiert. Auf Grund seiner Versuche behauptet *Pauly*, daß von allen bekannten Aminosäuren nur zwei befähigt seien, bei der Umsetzung mit Diazoverbindungen echte Farbstoffe zu geben, und zwar das Tyrosin und das Histidin. Nur diese Aminosäuren liefern bei alkalischer Reaktion mit Diazolösungen eine intensive Rotfärbung, die anderen hingegen färben sich hierbei reingelb. Dem Autor gelang es auch, die Natur der aus Tyrosin und Histidin entstehenden Azofarbstoffe festzulegen. Bei der Umsetzung von Tyrosin und Histidin mit Diazobenzolarsinsäure erhielt er folgende Verbindungen:



und



Angeregt durch die Untersuchungen von *Landsteiner*, haben sich zahlreiche Forscher mit der Frage der Umsetzung von Eiweiß mit diazotierter

¹ *Landsteiner*, diese Zeitschr. 86, 343, 1918; 93, 106, 1919. Die Spezifität d. serolog. Reaktionen, Berlin, Julius Springer, 1933. — ² *Pauly*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 94, 284, 1915.

Arsanilsäure beschäftigt. So kuppelte *Reiner*¹ diazotierte Arsanilsäure mit Antipneumococcensera und *Marrack*² mit Pseudoglobulin und mit kristallisiertem Ovalbumin. Das von letzterem Autor dargestellte Azoglobulin enthielt 1,1 bis 2,54 %, das Azoalbumin 1,53 % Arsen. *Haurowitz* und *Breiml*³ stellten nach der Methode von *Landsteiner* aus Pferdeserum und diazotierter Arsanilsäure Azokörper her, für welche sie, sowie für die Reaktionsprodukte sämtlicher Proteine mit diazotierter Arsanilsäure den Namen Arsanileiweiß vorschlugen. Die von *Haurowitz* und *Breiml* hergestellten Antigene enthielten 1,5 bis 2,1 % Arsen.

Die ersten Forscher, welche der Frage der chemischen Zusammensetzung der Azoproteine nähertraten, waren *Boyd* und *Hooker*⁴. Die Autoren stellten aus Casein, Gelatine und Zein durch Kupplung mit diazotierter Arsanilsäure Azokörper her, untersuchten diese auf ihren Stickstoff- und Arsengehalt und bestimmten das Verhältnis As/N. Allerdings waren die von ihnen verwendeten analytischen Methoden, wie *Boyd* und *Hooker* selbst bemerken, nicht vollkommen zuverlässig. Mittels einer äußerst komplizierten Formel berechneten *Boyd* und *Hooker* die unter der Voraussetzung der Richtigkeit der oben erwähnten *Paulyschen* Annahme zu erwartende Zahl der ins Eiweiß eintretenden Azogruppen. Beim Vergleich dieser errechneten Werte mit den von ihnen analytisch ermittelten Zahlen fanden die Autoren, daß die letzteren bei sämtlichen dargestellten Azoproteinen viel zu hoch waren, so daß sich ihnen der Verdacht ergab, daß entgegen der *Paulyschen* Ansicht außer Tyrosin und Histidin noch andere Aminosäuren der Proteine mit diazotierter Arsanilsäure reagieren würden.

Zur Klarstellung dieser Frage setzten *Boyd* und *Hooker* verschiedene aliphatische und aromatische Aminosäuren mit diazotierter Arsanilsäure in sodaalkalischer Lösung um und verglichen die einzelnen Umsetzungsprodukte nach zweistündiger Reaktionszeit kolorimetrisch mit einer ebenso behandelten Kontrollösung von diazotierter Arsanilsäure. Hierbei fanden sie, daß nur Histidin und Tyrosin eine stärkere Färbung zeigten als die Kontrolle, so daß sie auf Grund dieser Untersuchung sich veranlaßt sahen, die Richtigkeit der *Paulyschen* Hypothese vollkommen zu bestätigen.

In einer späteren Arbeit untersuchten *Boyd* und *Mover*⁵ Azoedestin und fanden, daß das Verhältnis As/N beim öfteren Nachdiazotieren des Azoproteins bedeutend steige. Sie erwogen nun die Möglichkeit, ob nicht durch das starke Alkali aliphatische Aminosäuren abgesprengt würden und dadurch das Verhältnis der cyclischen zu den nichtcyclischen Aminosäuren und demzufolge auch der Quotient As/N steigen könnte. Die diesbezüglich durchgeführten Versuche ergaben keine Bestätigung letzterer Annahme.

Auch eine andere von den Autoren vorgeschlagene Hypothese, die im Eiweiß vorhandenen Diketopiperazinringe würden sich mit diazotierter Arsanilsäure umsetzen, erwies sich nicht als stichhaltig. Da die Bildungsmöglichkeit von Diazoaminoverbindungen ebenfalls abgelehnt werden mußte, bedauern *Boyd* und *Mover*, keine befriedigende Erklärung für die Diskrepanz zwischen dem errechneten und ermittelten Wert für das Verhältnis As/N geben zu können.

¹ *Reiner*, Science 72, 483, 1930; J. Immunology 24, 213, 1933. —

² *Marrack*, Brit. J. exper. Path. 12, 182, 1931. — ³ *Haurowitz* u. *Breiml*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 205, 259, 1932; 214, 111, 1933. — ⁴ *Boyd* u. *Hooker*, J. of biol. Chem. 104, 329, 1934. — ⁵ *Boyd* u. *Mover*, ebenda 110, 457, 1935.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten einige Azoproteine dargestellt und der *Stickstoff- und Arsengehalt* dieser Stoffe exakt bestimmt werden. Haben doch *Boyd* und *Hooker* bei der Analyse dieser Verbindungen keine absoluten Werte, sondern nur die Verhältniszahl As/N angegeben.

Bezüglich der Darstellung der einzelnen Azoproteine hielten wir uns im allgemeinen an die von *Boyd* und *Hooker*¹ gegebene Vorschrift. Wir stellten unter möglichst gleichen Bedingungen das *Azocasein*, *Azofibroin*, *Azozein* und die *Azogelatine* dar. Diese Stoffe stellen durchwegs rotbraun gefärbte Produkte dar, welche in Alkalien mit tieferer Farbe löslich sind und aus dieser Lösung durch verdünnte Salzsäure in Form von braunen Flocken gefällt werden können. Nach öfterem Umlösen in Lauge und Fällen durch Säure gelingt es, analysenreine Substanzen zu erhalten. In diesen sollte der Stickstoff- und Arsengehalt ermittelt werden.

Die *Stickstoffbestimmung organischer Azoverbindungen* stößt insofern auf Schwierigkeiten, als die üblichen Verfahren der Stickstoffanalyse bei diesen Stoffen versagen. Nun hat *A. Friedrich*² im hiesigen Laboratorium das Mikrokjeldahlverfahren durch Vorbehandlung der organischen stickstoffhaltigen Substanz mit kochender Jodwasserstoffsäure derart modifiziert, daß er diese Methode einer generellen Anwendung zugänglich gemacht hat.

Mittels dieses Verfahrens untersuchten wir zunächst das von uns dargestellte *Azocasein* auf seinen Stickstoffgehalt. Den erhaltenen Wert verglichen wir mit einer an demselben Stoff mittels der Mikrodumaschmethode ermittelten Zahl. Der nach der Methode von *Friedrich* bestimmte Wert war viel höher als derjenige nach Dumas. Letztere Methode eignet sich demnach keineswegs zur Stickstoffbestimmung in Azoproteinen, weil offenbar infolge Bildung von stickstoffhaltiger Kohle zu niedrige Stickstoffwerte erhalten werden. *Friedrich* gelang es ferner bei besonders schwer analysierbaren stickstoffhaltigen Stoffen richtige Stickstoffwerte dadurch zu erzielen, daß er die betreffende Substanz im geschlossenen Rohr (Mikrobombenrohr) mit Jodwasserstoffsäure bei rund 200° reduzierte und hierauf gewöhnlich kjeldahlisierte. Vergleichsweise untersuchten wir unser *Azocasein* auch nach dieser Methode und fanden, daß der erhaltene Stickstoffwert im Vergleich zu dem nach der *Friedrich*schen Mikrokjeldahlmethode ohne Bombenrohr ermittelten Stickstoffgehalt erheblich *gestiegen* war. Somit glauben wir annehmen zu können, daß Azoproteine nur richtige Stickstoffwerte mittels des *Friedrich*schen Bestimmungsverfahrens im Bombenrohr liefern. Diese Methode wurde daher bei der Stickstoffanalyse aller von uns dargestellten Azoverbindungen *ausschließlich* verwendet.

Das Arsen bestimmten wir mittels der Methode von *O. Wintersteiner*³. Dieses Verfahren beruht darauf, daß Arsen unter Zerstörung der organischen Substanz zur Arsensäure oxydiert wird, welche aus Kaliumjodid Jod frei macht, das mit Thiosulfat titriert werden kann. Bei Gegenwart von Halogenen

¹ *Boyd* u. *Hooker*, *J. Immunology* **23**, 465, 1932. — ² *A. Friedrich*, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **216**, 68, 1933. — ³ *Wintersteiner*, *Mikrochemie* **4**, 155, 1926.

in organischen Substanzen sind besondere Vorsichtsmaßregeln notwendig, um richtige Resultate zu bekommen. Die Methode gibt zuverlässige Werte.

Die bei der Untersuchung der von uns dargestellten Azoproteine erhaltenen Zahlen finden sich in der folgenden Tabelle:

Tabelle I.

100 g genuinen Proteins enthalten N in g		100 g Azoprotein enthalten N in g		
Eiweiß	Stickstoff	Azoprotein	Stickstoff	Arsen
Casein	15,65	Azocasein . . .	$\left. \begin{array}{l} 15,45 \\ 15,10 \end{array} \right\} 15,27$	$\left. \begin{array}{l} 8,09 \\ 8,19 \\ 8,33 \end{array} \right\} 8,20$
Fibroin	17,8—19,2	Azofibroin . . .	$\left. \begin{array}{l} 20,82 \\ 20,68 \end{array} \right\} 20,75$	$\left. \begin{array}{l} 3,62 \\ 3,83 \end{array} \right\} 3,72$
Gelatine	17,97—18,2	Azogelatine . . .	$\left. \begin{array}{l} 18,18 \\ 18,17 \end{array} \right\} 18,17$	$\left. \begin{array}{l} 14,83 \\ 14,84 \\ 14,91 \end{array} \right\} 14,86$
Zein	16,13	Azozein	$\left. \begin{array}{l} 16,65 \\ 16,24 \end{array} \right\} 16,44$	$\left. \begin{array}{l} 8,08 \\ 8,26 \end{array} \right\} 8,17$

Beim Betrachten dieser Zahlen ergibt sich folgendes: Der Stickstoffwert der Proteine hat sich nach der Umsetzung mit diazotierter Arsanilsäure außer beim Azofibroin fast überhaupt nicht geändert. Die bei der Analyse der einzelnen Azoproteine erhaltenen Arsenwerte waren folgende: Das Azocasein enthielt rund 8%, das Azofibroin 4%, das Azozein 8% und die Azogelatine 15% Arsen.

Das Azocasein haben wir im übrigen nochmals mit diazotierter Arsanilsäure umgesetzt, um uns davon zu überzeugen, ob vielleicht noch weitere Azobenzolarsinsäurereste ins Molekül eintreten. Das erhaltene Produkt wurde gereinigt und einer Arsenanalyse unterworfen. Da der Arsengehalt gegenüber dem Ausgangsmaterial unverändert geblieben ist, können wir annehmen, daß das Azocasein unter optimalen Bedingungen hergestellt worden ist.

Der bei der Untersuchung der Gelatine erhaltene Arsenwert erscheint uns im Hinblick auf die von *Pauly* aufgestellte Theorie bezüglich der Kupplungsfähigkeit der Aminosäuren besonders auffällig. Da bekanntlich die Gelatine tyrosinfrei ist und nur 0,9% Histidin enthält, war bei der Umsetzung dieses Proteins mit diazotierter Arsanilsäure entweder keinerlei Reaktionsprodukt oder ein solches mit einem sehr niedrigen Arsengehalt zu erwarten, vorausgesetzt, daß die *Pauly'sche* Annahme zutrifft. Wir erhielten jedoch gerade bei dieser Verbindung den höchsten Arsenwert.

Zum besseren Verständnis bringen wir im Nachstehenden eine Tabelle, in welcher der Anteil der cyclischen Aminosäuren in den von uns zur Umsetzung gebrachten Proteinen festgehalten erscheint. (Die Zahlen entnahmen wir *Otto Kestner*, Chemie der Eiweißkörper, Braunschweig, Friedr. Vieweg & Sohn, 1925.)

Tabelle II.

	100 g enthalten in g			
	Casein	Fibroin	Zein	Gelatine
Tyrosin	4,5	11,0	3,6—5,2	0
Histidin	3,4—3,8	0,7	0,8	0,9
Phenylalanin	3,2	1,5	6,6—7,6	1,4
Tryptophan	2,0	0	0	0
Prolin	6,7	1,0	9,0	9,5
Oxyprolin	0,2	0	0	14,1

Betrachtet man diese Tabelle, so fällt bei der *Gelatine* vor allem der sehr hohe Oxyprolin- und der immerhin auch beträchtliche Prolingehalt auf. Tyrosin und Tryptophan fehlen ganz, Histidin und Phenylalanin sind in nur relativ geringer Menge vorhanden.

Das *Casein* enthält bis auf einen geringen Oxyprolinwert die angeführten cyclischen Aminosäuren in nicht unbedeutender Menge.

Das oxyprolin- und tryptophanfreie *Fibroin* zeichnet sich durch einen hohen Tyrosingehalt aus. Das gleichfalls oxyprolin- und tryptophanfreie *Zein* enthält relativ viel Tyrosin, Phenylalanin und Prolin.

Vergleicht man nun die Tabelle II mit den in der Tabelle I festgehaltenen Arsenwerten der einzelnen Azoproteine, so ergibt sich der Verdacht, daß, wie auch schon *Boyd* und Mitarbeiter vermuteten, für die Kupplungsfähigkeit mit diazotierter Arsanilsäure entgegen der *Pauly*schen Annahme nicht allein der Tyrosin- und Histidingehalt eines Proteins von ausschlaggebender Bedeutung sein dürfte, sondern daß beim Zustandekommen dieser Reaktion auch die übrigen cyclischen Aminosäuren eine wesentliche Rolle spielen könnten. Denn nur so wäre es zu erklären, daß beispielsweise die tyrosinfreie und histidinarme, dagegen prolin-, besonders aber oxyprolinreiche *Gelatine* ein Kupplungsprodukt mit 15% Arsen, das an cyclischer Aminosäure arme *Fibroin* trotz großen Tyrosingehalts ein solches mit nur rund 4% Arsen liefert, und daß das *Zein*, das bei gleichem Histidingehalt nur einen Bruchteil des Tyrosinwertes von *Fibroin* erreicht, ein Reaktionsprodukt mit dem zweifachen Arsenwerte (8%) des *Fibroins* ergibt. Es enthält aber auch das *Zein* im Vergleich zum *Fibroin* ziemlich große Mengen von Phenylalanin und Prolin.

Diese an den Azoproteinen erzielten Ergebnisse waren richtunggebend für die folgenden Untersuchungen, da es unerlässlich schien, die Angaben *Pauly*s bezüglich der Reaktionsfähigkeit bzw. Unfähigkeit cyclischer Aminosäuren, mit Diazoverbindungen Kupplungsprodukte zu geben, zu überprüfen. Zu diesem Zwecke brachten wir *Phenylalanin*, *Tryptophan*, *Prolin* und *Oxyprolin* mit diazotierter Arsanilsäure in Reaktion. Wir hielten uns im wesentlichen an die Angaben von *Pauly*. Hierbei ergab sich nun, daß im Gegensatz zu Histidin und Tyrosin, welche sich, wie schon *Pauly* erwähnt, bei diesem Verfahren intensiv

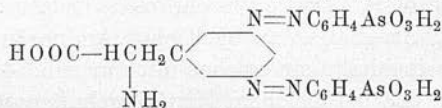
dunkelrot färben, sämtliche oben angeführten Aminosäuren nur gelbrote Reaktionsflüssigkeiten liefern. Läßt man jedoch diese Lösungen nicht, wie *Pauly* angibt, zwei Stunden, sondern 24 Stunden im Eisschrank stehen, so vertieft sich die Färbung zu einer tiefroten, welche im Falle des Oxyprolins gleich, bei Phenylalanin, Tryptophan und Prolin jedoch schwächer gefärbt erscheint, als diejenige einer alkalischen diazotierten Arsanilsäurelösung (Kontrolle). Wir konnten also bis zu diesem Punkte vollkommen die Angaben von *Boyd* und *Hooker*¹ bestätigen. Fällt man nun diese roten Lösungen mit verdünnter Salzsäure, so gelingt es ohne weiteres, braungefärbte Niederschläge zu erhalten. Nach öfterem Umlösen aus verdünnter Natronlauge und Fällen mit verdünnter Salzsäure ließen sich auf diesem Wege analysenreine Stoffe darstellen.

Die bei allen diesen Stoffen durchgeführten Analysen ergaben einwandfrei, daß die neu hergestellten Körper durchwegs *Umsetzungsprodukte zwischen den genannten cyclischen Aminosäuren und diazotierter Arsanilsäure* darstellen. Es reagiert analog dem Tyrosin und Histidin ein Molekül der umgesetzten Aminosäure mit je zwei Molekülen diazotierter Arsanilsäure.

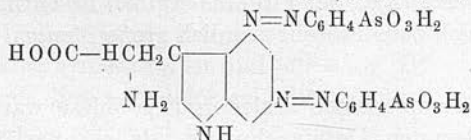
Im folgenden bringen wir die Summen- und Strukturformeln der neu dargestellten Stoffe, wobei wir bei den Konfigurationsbildern hervorheben müssen, daß die Eintrittsstellen der Diazoarsanilsäurereste in das Aminosäuremolekül nur in Anlehnung an die entsprechenden *Pauly*schen Formelbilder beim Histidin und Tyrosin gewählt wurden und ebensowenig wie bei *Pauly* durch Konstitutionsermittlung erhärtet worden sind.

Es wurden dargestellt:

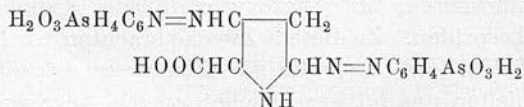
Phenylalanin-bis-azobenzolarsinsäure, $C_{21}H_{21}O_8N_5As_2 + 2H_2O$,



Tryptophan-bis-azobenzolarsinsäure, $C_{23}H_{22}O_8N_6As_2$,

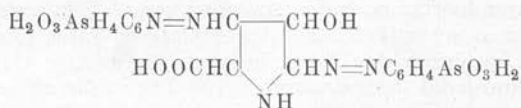


Prolin-bis-azobenzolarsinsäure, $C_{17}H_{19}O_8N_5As_2 + 2H_2O$,



¹ *Boyd* u. *Hooker*, J. of biol. Chem. 104, 329, 1934.

Oxyprolin-bis-azobenzolarsinsäure, $C_{17}H_{19}O_9N_5As_2$,



In diesem Zusammenhange sei übrigens erwähnt, daß schon *Hanke*¹ darauf hingewiesen hat, daß die kolorimetrische Bestimmung des Tyrosins mittels diazotierter Sulfanilsäure durch größere Tryptophanmengen und wahrscheinlich auch andere Eiweißbestandteile gestört werde.

Zusammenfassend kann man auf Grund dieser Ergebnisse folgern, daß in den Proteinen nicht nur Tyrosin und Histidin, sondern auch Phenylalanin, Tryptophan, Prolin und Oxyprolin mit diazotierter Arsanilsäure reagieren können. Durch diese Annahme erscheinen die hohen Arsenwerte der untersuchten Azoproteine ohne weiteres erklärlich. Die *Paulysche* Auffassung bezüglich der Kupplungsfähigkeit der Aminosäuren bedarf somit einer wesentlichen Erweiterung.

Versuchsteil und analytische Belege.

I. Allgemeine Darstellung der Azoproteine.

Diese erfolgte im wesentlichen nach den Angaben von *Boyd* und *Hooker*² und beruht darauf, daß das Protein in sodaalkalischer Lösung mit diazotierter Arsanilsäure umgesetzt wird. Nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank wird die tiefrote Lösung *nicht*, wie *Boyd* und *Hooker* angaben, in Alkohol gegossen und dann erst mit Salzsäure gefällt, sondern direkt mit verdünnter Salzsäure versetzt, der entstandene braunrote Niederschlag abgesaugt und durch wiederholtes Auflösen in verdünnter Lauge und Fällen mit verdünnter Salzsäure gereinigt, hierauf gewaschen, getrocknet und analysiert.

Bereitung der diazotierten Arsanilsäure.

Arsanilsäure wurde aus Atoxyl, dem Natriumsalz dieser Säure, durch Versetzen mit der berechneten Menge verdünnter Salzsäure zunächst in Freiheit gesetzt und hierauf mit verdünnter Salzsäure und unter Eiskühlung tropfenweise mit einer $n/2$ Natriumnitritlösung bis zur deutlichen Reaktion auf Jodkalistärkepapier versetzt. Das Diazotierungsgemisch wurde $1/2$ Stunde im Eisschrank stehengelassen und hierauf unter Eiskühlung mit der alkalischen Lösung des Proteins in Reaktion gebracht.

Methode der Stickstoffbestimmung.

Diese erfolgte nach *A. Friedrich*³ im *Mikrobombenrohr* durch Vorbehandlung der Substanz mit kochender Jodwasserstoffsäure (p. a., $d = 1,7$) und nachfolgender Kjeldahlisierung.

¹ *Hanke*, J. of biol. Chem. 79, 591, 1928. — ² *Boyd* u. *Hooker*, J. Immunology 23, 465, 1932. — ³ *A. Friedrich*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 216, 68, 1933.

Methode der Arsenbestimmung.

Wir verfahren hierbei nach den Angaben von O. Wintersteiner¹. Dieses Verfahren beruht im wesentlichen auf der oxydativen Veraschung der organischen Substanz, wodurch das Arsen in seine fünfwertige Form übergeht, welche aus Kaliumjodid Jod, das mit n/10 Thiosulfat titriert wird, freimacht. Bezüglich der Einzelheiten der Methodik sei auf das Original verwiesen.

1. Azocasein.

7 g Casein *Hammarsten* wurden in 73 ccm n/10 NaOH gelöst und auf 100 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt, mit 100 ccm n Na₂CO₃-Lösung und hierauf unter Eiskühlung mit einer Lösung von Diazobenzolarsinsäure versetzt. Diese Lösung wurde wie folgt bereitet: 4,9 g Atoxyl wurden mit 47,6 ccm n HCl versetzt. Die entstandene freie Arsanilsäure wurde mit 315 ccm Wasser, welches 2,4 ccm konzentrierte Salzsäure enthielt, versetzt und dieser Lösung wurden unter Eiskühlung etwa 36 ccm n/2 Natriumnitritlösung zugetropft. Die so entstandene Lösung, welche eben eine Reaktion auf Jodkalistärkepapier ergab, wurde für eine halbe Stunde in den Eisschrank gebracht und hierauf mit der oben beschriebenen alkalischen Caseinlösung umgesetzt. Die Ausfällung, Reinigung und Trocknung im Vakuum erfolgte, wie im allgemeinen Teil beschrieben worden ist.

Analysen.

6,399 mg Substanz:	3,533 ccm n/50	Säure;	N 15,45 %
5,195 „ „	2,795 „ n/50	„	N 15,10 %
7,908 „ „	1,727 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 8,19 %
9,289 „ „	2,005 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 8,09 %
8,280 „ „	1,840 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 8,33 %

Reaktionsprodukt zwischen Azocasein und Diazobenzolarsinsäure.

a) 2 g Azocasein wurden in 18 ccm n/10 Natronlauge gelöst, auf 30 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt und mit 30 ccm n Na₂CO₃-Lösung versetzt.

b) 1,4 g Atoxyl wurden zunächst mit 13,6 ccm n HCl, hierauf mit 70 ccm Wasser, welche 0,7 ccm konzentrierte Salzsäure enthielten, versetzt und zu dieser Lösung wurden unter Eiskühlung 10,2 ccm n/2 Natriumnitritlösung zutropfen gelassen. Beide Lösungen wurden, wie oben beschrieben, miteinander in Reaktion gebracht und verarbeitet.

Arsenanalyse.

8,385 mg Substanz:	1,773 ccm n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 7,93 %
9,814 „ „	2,080 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 7,94 %
7,426 „ „	1,548 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ;	As 7,82 %

2. Azofibroin.

3 g Fibroin wurden mit 120 ccm n NaOH und 50 ccm Wasser versetzt und in der Hitze gelöst. Vom Ungelösten wurde abfiltriert und das Filtrat gekühlt.

¹ O. Wintersteiner, Mikrochemie IV, 155, 1926.

1,65 g Atoxyl wurden mit 16 ccm n Salzsäure versetzt. Dann wurden 105 ccm Wasser, welche 0,8 ccm konzentrierte HCl enthielten, hinzugefügt und unter Eiskühlung mit 12 ccm n/2 Natriumnitritlösung versetzt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

Analysen.

5,084 mg Substanz:	3,782 ccm n/50	Säure;	N 20,82 %
5,146 „ „	3,802 „ n/50	„	N 20,68 %
6,569 „ „	0,634 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; As	3,62 %
6,506 „ „	0,664 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; As	3,83 %

3. Azogelatine.

a) 5 g Gelatine wurden mit 100 ccm n NaOH auf dem Wasserbade erwärmt und die so entstandene gallertige Flüssigkeit wurde unter Eiskühlung mit folgender Diazobenzolarsinsäurelösung versetzt.

b) 4,5 g Atoxyl wurden mit 73 ccm n HCl versetzt und zur Flüssigkeit 32,4 ccm n/2 Natriumnitritlösung allmählich hinzugefügt. Lösung a und b wurden unter Eiskühlung vereinigt und wie gewöhnlich aufgearbeitet.

Die entstandene Azogelatine ist im Gegensatz zu Azocasein und Azofibroin in Wasser leichter löslich, so daß die Ausbeute viel geringer war als bei den erwähnten Stoffen.

Analysen.

5,684 mg Substanz:	3,692 ccm n/50	Säure;	N 18,18 %
5,548 „ „	3,603 „ n/50	„	N 18,17 %
6,301 „ „	2,494 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; As	14,84 %
6,044 „ „	2,392 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; As	14,83 %
6,269 „ „	2,494 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; As	14,91 %

4. Azozein.

a) 3 g Zein wurden in 60 ccm n NaOH gelöst.

b) 2,7 g Atoxyl wurden mit 42,6 ccm n HCl versetzt und dann allmählich 19,5 ccm n/2 Natriumnitritlösung zutropfen gelassen.

Lösung a und b wurden vereinigt und wie gewöhnlich aufgearbeitet. Azozein ist ebenfalls in Wasser leichter löslich wie das Azocasein und Azofibroin. In 80 %igem Alkohol ist es, wie schon *Boyd* und *Hooker* beobachtet haben, mit orangeroter Farbe löslich.

Analysen.

5,918 mg Substanz:	3,523 ccm n/50	Säure;	N 16,65 %
6,018 „ „	3,493 „ n/50	„	N 16,24 %
5,596 „ „	1,206 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; N	8,08 %
6,350 „ „	1,400 „ n/100	Na ₂ S ₂ O ₃ ; N	8,26 %

II. Kupplungsprodukte der Diazobenzolarsinsäure mit cyclischen Aminosäuren.

Unter folgenden Bedingungen lassen sich Umsetzungsprodukte von Phenylalanin, Tryptophan, Prolin und Oxyprolin mit Diazobenzolarsinsäure erzielen. Im wesentlichen hielten wir uns dabei an die *Pauly*sche Vorschrift, nur diazotierten wir die Arsanilsäure bei stark saurer Reaktion und ließen die Reaktionslösung nicht 2 Stunden, sondern 24 Stunden stehen. Je ein Millimol Aminosäure wurde nach *Pauly* mit 2 Millimol diazotierter Arsanilsäure in Reaktion gebracht. Zur Herstellung dieser Verbindung wurde zunächst Atoxyl durch die berechnete Menge Salzsäure zerlegt, die Lösung *angesäuert* und dann erst die saure Lösung mit $n/5$ Natriumnitrit vorsichtig unter Eiskühlung bis zur deutlichen Reaktion auf Jodkalistärkepapier umgesetzt. Nach halbstündigem Stehen im Eisschrank wurde diese Lösung auf die alkalische Lösung der Aminosäure einwirken gelassen. Nach *24stündigem Stehen* im Eisschrank (*Pauly* läßt nur 2 Stunden stehen) vertiefte sich die ursprünglich gelbrote Färbung der Reaktionsflüssigkeit. Diese wurde mit verdünnter Salzsäure gefällt, der Niederschlag abgesaugt, in Lauge gelöst und durch Salzsäure wieder gefällt. Dies wurde mehrmals wiederholt. Der Niederschlag wurde schließlich gründlich gewaschen, im Vakuum getrocknet und analysiert. Es wurden Reaktionsprodukte mit *Phenylalanin*, *Tryptophan*, *Prolin* und *Oxyprolin* erhalten. Die Analysen ergaben, daß in je 1 Mol Aminosäure je 2 Diazobenzolarsinsäurereste eingetreten waren.

1. Phenylalanin-bis-Diazobenzolarsinsäure.

a) 0,66 g Phenylalanin wurden mit 15 ccm n NaOH und 10 ccm gesättigter Natriumacetatlösung versetzt.

b) 2,3 g Atoxyl wurden zur Darstellung freier Arsanilsäure zunächst mit 18 ccm n HCl versetzt. Nach Zusatz von weiteren 12 ccm n HCl wurden unter Eiskühlung etwa 40 ccm $n/5$ Natriumnitritlösung zutropfen gelassen, bis die Lösung deutlich auf Jodkalistärkepapier reagierte. Nach halbstündigem Stehen wurden die Lösungen a und b vereinigt und nach 24stündigem Stehen im Eisschrank, wie oben beschrieben, aufgearbeitet.

Analysen.

6,122 mg Substanz;	2,37 ccm $n/50$ Säure
6,394 „ „	2,44 „ $n/50$ „
6,274 „ „	3,77 „ $n/100$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
6,215 „ „	3,74 „ $n/100$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_8\text{N}_5\text{As}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$

ber. N = 10,65 %;

As = 22,83 %;

gef. N₁ = 10,84 %; 10,69 %.

As = 22,53 %; 22,56 %.

2. Tryptophan-bis-Azobenzolarsinsäure.

a) 0,816 g Tryptophan wurden mit 15 ccm n Natronlauge und 10 ccm gesättigter Natriumacetatlösung versetzt.

b) 2,3 g Atoxyl wurden zunächst mit 18 ccm n HCl versetzt. Die so entstandene freie Arsanilsäure mit 12 ccm n HCl angesäuert und unter Kühlung mit 40 ccm n/5 Natriumnitrit tropfenweise versetzt.

Lösung a und b wurden vereinigt und, wie oben beschrieben, verarbeitet.

Im Gegensatz zu Phenylalanin, Prolin und Oxyprolin reagierte Tryptophan rascher mit dem Diazotierungsgemisch, so daß hier bereits nach wenigen Minuten statt der gelbroten eine dunkelrote Färbung entstand.

Analysen.

6,160 mg	Substanz;	2,85 ccm	n/50 Säure
5,862 „	„	2,61 „	n/50 „
5,857 „	„	3,59 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃
5,741 „	„	3,47 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃

Für C₂₃H₂₂O₈N₆As₂

ber. N = 12,73 %;	As = 22,73 %;
gef. N = 12,95 %; 12,47 %.	As = 22,95 %; 22,76 %.

3. Prolin-bis-Azobenzolarsinsäure.

a) 0,4 g Prolin wurden mit 35 ccm n Natronlauge versetzt.

b) 1,45 g Atoxyl wurden zunächst mit 14 ccm n HCl versetzt, hierauf wurden 63 ccm Wasser, welche 0,3 ccm konzentrierte HCl enthielten, zugefügt und diese Lösung mit 7,5 ccm n/2 Natriumnitritlösung tropfenweise umgesetzt. Nach Vereinigung beider Lösungen wurde wie immer aufgearbeitet, nur mußte hier die Reaktionsflüssigkeit vor dem Fällen mit verdünnter Salzsäure ein wenig eingengt werden.

Analysen.

4,765 mg	Substanz;	1,96 ccm	n/50 Säure.
5,179 „	„	2,09 „	n/50 „
6,072 „	„	4,01 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃
5,477 „	„	3,64 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃

Für C₁₇H₁₉O₈N₅As₂ + 2 H₂O

ber. N = 11,53 %;	As = 24,71 %;
gef. N = 11,52 %; 11,30 %.	As = 24,73 %; 24,90 %.

4. Oxyprolin-bis-Azobenzolarsinsäure.

a) 1,31 g Oxyprolin wurden mit 20 ccm n NaOH und 10 ccm gesättigter Natriumacetatlösung versetzt.

b) 5,7 g Atoxyl wurden zunächst mit 44 ccm n HCl versetzt. Die freie Arsanilsäure wurde nach Zusatz von 36 ccm n HCl unter Kühlung mit 90 ccm n/5 Natriumnitritlösung vorsichtig in Reaktion gebracht.

Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie gewöhnlich.

Analysen.

4,916 mg	Substanz;	2,08 ccm	n/50 Säure
4,895 „	„	2,08 „	n/50 „
5,351 „	„	3,66 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃
5,131 „	„	3,52 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃
5,378 „	„	3,66 „	n/100 Na ₂ S ₂ O ₃

Für C₁₇H₁₉O₉N₅As₂

ber. N = 11,92 %;	As = 25,55 %;
gef. N = 11,85 %; 11,90 %.	As = 25,63 %; 25,68 %; 25,50 %.

Zusammenfassung.

1. Es wurden Casein, Fibroin, Zein und Gelatine mit Diazobenzolarsinsäure nach der Vorschrift von *Boyd* und *Hooker* unter möglichst gleichen Bedingungen umgesetzt und in den erhaltenen Produkten der Stickstoff- und Arsengehalt bestimmt. Der Stickstoff wurde nach dem von *A. Friedrich* modifizierten Mikrokjeldahlverfahren im Mikrobombenrohr ermittelt. Nur diese Methode liefert zuverlässige Stickstoffwerte bei der Analyse organischer Azoverbindungen. Gewöhnlicher Mikrokjeldahl und Dumas ergaben zu tiefe Resultate.

Die erhaltenen Zahlen finden sich in einer Tabelle zusammengestellt. Der Stickstoffgehalt ist im Verhältnis zum Stickstoffwert der ursprünglichen Proteine wenig verändert. Der Arsengehalt des Azocaseins beträgt rund 8%, des Azofibroins 4%, des Azozeins 8% und derjenige der Azogelatine 14,8%. Diese Arsenwerte der einzelnen Azoproteine können mit der *Paulys*chen Theorie über die ausschließliche Kupplungsfähigkeit des Tyrosins und Histidins nicht in Einklang gebracht werden.

2. Entgegen der Ansicht *Paulys* gelang es, Phenylalanin, Tryptophan, Prolin und Oxyprolin mit Diazobenzolarsinsäure in Reaktion zu bringen. Die dargestellten Stoffe wurden analysiert und die erhaltenen Werte stimmten auf die bis-Azobenzolarsinsäurederivate der erwähnten Aminosäuren. Es werden die Darstellungsmethoden, Analysenergebnisse und die Formeln der rein dargestellten Stoffe angeführt.

3. Die hohen Arsenwerte der untersuchten Azoproteine lassen sich dadurch erklären, daß außer Tyrosin und Histidin auch die anderen cyclischen Aminosäuren kupplungsfähig sind.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

Seite

Lasnitzki, A. Über den Einfluß der Kationen auf das Gärvermögen der Tumorzelle. VI. Mitteilung: Calcium und Magnesium (2. Teil)	101
Weber, L. I. und Fritz Lederer. Einfluß von ein- und mehrwertigen Alkoholen, sowie von Mono- und Polysacchariden auf die Flüssigkeitsaufnahme durch Gele	115
Kapeller-Adler, Regine. Bemerkung zur Arbeit „Franz Földes: Das Vorkommen des Histidins im menschlichen Urin“	123
Hinsberg, K. Über die Bestimmung der Hydroxylzahl von Oxyfettsäuren	125
Barrenscheen, H. K. und Herbert Prinz. Über Melanogen und Melanin	130
Roughton, F. J. W. Bemerkungen zu einer Arbeit von G. Groscurth und R. Havemann über Carb-Hämoglobin	150
Groscurth, G. und R. Havemann, Entgegnung auf die vorstehende Bemerkung F. J. W. Roughtons zu unserer Arbeit über Carb-Hämoglobin	153
Warburg, Otto und Walter Christian. Gärungs-Co-Ferment aus roten Blutzellen	156

Die quantitative organische Mikroanalyse

Von

Fritz Pregl

Vierte, neubearbeitete und erweiterte Auflage

von

Dr. Hubert Roth

Assistent am Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg.

Mit 72 Abbildungen. XIII, 328 Seiten. 1935. RM 24.—; geb. RM 26.—

Ein Werk, wie das vorliegende, das bereits in drei vorhergehenden Auflagen die Probe bestanden hat, bedarf eigentlich keiner Empfehlung mehr. Die organische Mikro-Elementaranalyse ist heute zu einem bedeutenden Sondergebiet der analytischen Chemie emporgewachsen. Diese in verhältnismäßig kurzer Zeit zu solcher Höhe geführt zu haben, danken wir zunächst dem genialen Schöpfer Fritz Pregl. Mit guten Gründen haben G. Goldschmiedt und E. Späth die bahnbrechenden Forschungen dieses Meisters analytischer Feinarbeit als den größten Fortschritt auf dem Gebiete der organischen Elementaranalyse seit Justus von Liebig's Zeiten bezeichnet. Die vorliegende vierte Auflage wurde von Dr. Hubert Roth, einem Schüler Pregl's, bearbeitet und herausgegeben. Im großen und ganzen hat der Verfasser die bewährte Anordnung des Stoffes beibehalten. Für den in der Praxis stehenden Analytiker ist es von nicht zu unterschätzendem Wert, daß die behandelten Methoden sich wirklich durch Einfachheit und Zuverlässigkeit auszeichnen. Daß dabei nur solche Verfahren bekanntgegeben worden sind, die sich längere Zeit in der Praxis bewährt haben, verdient besondere Anerkennung. Von den neu aufgenommenen Methoden seien als besonders interessant die nachstehenden erwähnt: alkalimetrische Bestimmung von Chlor und Brom; Titration des Jodes als Jodat; direkte Äquivalent-Gewichtsbestimmung; Titration von Aminosäuren; lechtelektrische Messung der Absorptionsspektren; Mikro-Molekular-Refraction; Schmelzpunktsbestimmung unter dem Mikroskop und die Siedepunktsbestimmung mit kleinsten Substanzmengen. — Die Neubearbeitung dieses vorzüglichen Werkes kann allen Analytikern, nicht zuletzt auch den organischen Chemikern, die mit kleinsten Einwaagen quantitative Arbeiten durchzuführen haben, aufs wärmste empfohlen werden.

„Chemiker-Zeitung“

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Biochemisches Handlexikon

Herausgegeben von

Geh. Medizinalrat Professor Dr. med. et phil. h. c. **Emil Abderhalden**

Direktor des Physiologischen Instituts der Universität Halle a. d. S.

1. Band, I. Hälfte: Kohlenstoff, Kohlenwasserstoffe, Alkohole der aliphatischen Reihe, Phenole. XVIII, 704 Seiten. 1911. RM 55.35; geb. RM 57.60
II. Hälfte: Alkohole der aromatischen Reihe, Aldehyde, Ketone, Säuren, Heterocyclische Verbindungen. 795 Seiten. 1911. RM 66.15; geb. RM 68.40
2. Band: Gummisubstanzen, Hemicellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminsubstanzen, Stärke, Dextrine, Inuline, Cellulosen, Glykogen. Die einfachen Zuckerarten. Stickstoffhaltige Kohlenhydrate. Cyklosen, Glucoside. V, 729 Seiten. 1911. Geb. RM 61.20
3. Band: Fette, Wachse, Phosphatide, Protagon, Cerebroside, Sterine, Gallensäuren. III, 341 Seiten. 1911. RM 30.15; geb. RM 32.40 (nur noch in der vollständigen Sammlung käuflich)
4. Band: Proteine der Pflanzenwelt, Proteine der Tierwelt, Peptone und Kyrine, Oxydative Abbauprodukte der Proteine, Polypeptide, Aminosäuren, Stickstoffhaltige Abkömmlinge des Eiweißes und verwandte Verbindungen, Schwefelhaltige Verbindungen, Nucleoproteide, Nucleinsäuren, Purinsubstanzen, Pyrimidinbasen. VI, 1190 Seiten. 1911. Geb. RM 88.20
5. Band: Alkaloide, Tierische Gifte, Produkte der inneren Sekretion, Antigene, Fermente. VI, 674 Seiten. 1911. Geb. RM 57.60
6. Band: Farbstoffe der Pflanzen- und der Tierwelt. VI, 390 Seiten. 1911. RM 31.95; geb. RM 34.20
7. Band: Gerbstoffe, Flechtenstoffe, Saponine, Bitterstoffe, Terpene, Ätherische Öle, Harze, Harzalkohole, Harzsäuren, Kautschuk. III, 822 Seiten. 1912. Geb. RM 70.20
Band 7 ist broschiert in zwei Teilen lieferbar. I. Hälfte RM 36.90; II. Hälfte RM 30.60
8. Band (1. Ergänzungsband): Gummisubstanzen, Hemicellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminstoffe, Stärke, Dextrine, Inuline, Cellulosen, Glykogen. Die einfachen Zuckerarten und ihre Abkömmlinge, Stickstoffhaltige Kohlenhydrate, Cyklosen, Glucoside, Fette und Wachse, Phosphatide, Protagon, Cerebroside, Sterine, Gallensäuren. VI, 507 Seiten. 1914. Neudruck 1920. Geb. RM 41.40
9. Band (2. Ergänzungsband): Proteine der Pflanzenwelt und der Tierwelt. Peptone und Kyrine, Oxydative Abbauprodukte der Proteine, Polypeptide, Aminosäuren, Stickstoffhaltige Abkömmlinge des Eiweißes unbekannter Konstitution, Harnstoff und Derivate, Guanidin, Kreatin, Kreatinin, Amine. Basen mit unbekannter und nicht sicher bekannter Konstitution, Cholin — Betaine, Indol und Indolabkömmlinge, Nucleoproteide, Nucleinsäuren, Purin- und Pyrimidinbasen und ihre Abbaustufen, Tierische Farbstoffe, Blutfarbstoffe, Gallenfarbstoffe, Urobilin. VI, 415 Seiten. 1915. Unveränderter Neudruck 1922. Geb. RM 35.10
10. Band (3. Ergänzungsband): Tierische Farbstoffe (Blutfarbstoffe, Hämine, Porphyrine, Gallenfarbstoffe, Pyrrolderivate), Nucleoproteide und Nucleinsäuren, Purinsubstanzen, Pyrimidine, Sterine, Gallensäuren, Kohlenhydrate (Polysaccharide und Monosaccharide), Stickstoffhaltige Kohlenhydrate, Cyklosen, Glucoside. VI, 943 Seiten. 1923. RM 74.70; geb. RM 79.20
11. Band (4. Ergänzungsband): Polypeptide, Aminosäuren, Stickstoffhaltige Abkömmlinge des Eiweißes unbekannter Konstitution, Harnstoff und Derivate, Guanidin, Kreatin, Kreatinin, Amine. Basen mit unbekannter und nicht sicher bekannter Konstitution, Cholin, Betain, Neurin, Muscarin, Indol und Indolabkömmlinge, Biologisch wichtige Aminosäuren, die im Eiweiß nicht vorkommen, Gerbstoffe. Mit Generalregister der Bände 1—11. V, 675 Seiten. 1924. RM 59.40; geb. RM 62.10
12. Band (5. Ergänzungsband): Harnstoff und Derivate, Guanidin, Kreatin, Kreatinin, Amine. Basen mit unbekannter und nicht sicher bekannter Konstitution, Cholin, Betain, Neurin, Muscarin, Stachydrin, Indol und Indolabkömmlinge, Aminosäuren, die im Eiweiß vorkommen, Biologisch interessante Aminosäuren, die im Eiweiß nicht vorkommen, Abbauprodukte von solchen und von im Eiweiß vorkommenden Aminosäuren, Polypeptide, Diketopiperazine. V, 1103 Seiten. 1930. RM 122.40; geb. RM 125.10
13. Band (6. Ergänzungsband): Gummisubstanzen, Hemicellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminstoffe, Stärke, Dextrine, Kohlehydrate der Inulingruppe, Cellulosen, Lignocellulose und Lignin, Glykogen, Einfache Kohlehydrate: Monosaccharide, Disaccharide, Trisaccharide, Abkömmlinge der einfachen Zuckerarten. Anhang: Alkohole, Ein- und zweibasische Säuren, Stickstoffhaltige Kohlehydrate, Cyklosen, Glykoside. V, 1085 Seiten. 1931. RM 122.40; geb. RM 125.10
14. Band (7. Ergänzungsband): Proteine, Pyrrolderivate, Tierische Farbstoffe und synthetische Porphyrine, Gallenfarbstoffe, Sterine, Nucleinsäuren, Nucleotide, Nucleoside. IV, 963 Seiten. 1933. RM 123.—; geb. RM 126.—

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn A. G., Braunschweig

Printed in Germany