

## Ueber das Vorkommen von Mannit im normalen Hundeharn.

Von

**M. Jaffe.**

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaktion zugegangen am 14. Februar 1883.)

Aus dem Harn zweier Hunde, welche längere Zeit mit grossen Morphiumdosen gefüttert worden waren und dabei anscheinend völlig normal sich verhielten, war es mir gelungen, eine Substanz zu isoliren, welche die Zusammensetzung und alle Eigenschaften des Mannits zeigte. Es lag nahe, diesen auffälligen Befund für eine pathologische Erscheinung zu halten, und in Beziehung zu der Morphiumwirkung zu setzen, um so mehr, als von vielen Seiten das Auftreten eines nahe verwandten Kohlenhydrates, des Traubenzuckers im Morphiumharn behauptet worden ist. Indessen stellte es sich bald heraus, dass die Mannitausscheidung auch ohne Morphiumdarreichung bei ganz normalen Hunden vorkommt, und dass sie bei diesen, wie bei den Morphiumthieren von einer bestimmten Ernährungsweise abhängig ist. Ich habe sie bisher nur bei Fütterung mit Roggenbrod und Milch oder mit Brod allein beobachtet, dagegen bei Fütterung mit anderen Nahrungsstoffen, von denen alsbald die Rede sein wird, vergeblich gesucht.

Die Mannitquantitäten, welche bei wirksamem Futter sich aus dem Harn darstellen lassen, sind keineswegs unbedeutend; aus der 14-tägigen Harnmenge eines Morphiumhundes erhielt ich nahezu 3 gr. eines völlig reinen Produktes, während aus der 8-tägigen Urinmenge eines normalen, mit Milch und Brod ernährten Hundes allerdings nur circa 0,4 gr. isolirt werden konnten.

Diese Zahlen bleiben aber offenbar hinter dem wirklichen Mannitgehalt noch weit zurück, da bei der Reindarstellung dieses Körpers nach dem sofort zu beschreibenden Verfahren erhebliche Verluste nicht vermieden werden können.

Ob unter der Einwirkung des Morphiums, wie es nach den mitgetheilten Zahlen den Anschein hat, die Manniturie vielleicht gesteigert wird, müsste erst durch genaue quantitative Bestimmungen, für welche es vorderhand noch an Methoden fehlt, eruirt werden. Möglich wäre es immerhin, dass durch so starke Morphiumdosen (1 bis 2 gr. täglich) wie sie jenes Thier erhielt, die Oxydationsvorgänge im Körper bis zu einem gewissen Grade gehemmt werden und ein grösserer Antheil des Mannits der Verbrennung entgehen kann, als es in der Norm der Fall ist.

Die Isolirung des Mannits aus dem Harn geschieht am besten in folgender Weise:

Der Harn wird abgedampft und mit Alkohol extrahirt; aus den vereinigten alkoholischen Auszügen einer mindestens 8—14-tägigen Fütterungsperiode wird der Alkohol abdestillirt, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag enthielt stets den grössten Antheil des Mannits, eine geringere Menge wird aus dem Filtrate durch Ammoniak niedergeschlagen. Beide Niederschläge werden nun in Wasser suspendirt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelblei getrennten Filtrate zur Verjagung des  $H_2S$  auf dem Wasserbade erwärmt, alsdann mit feuchtem Silberoxyd zur Entfernung des Chlors behandelt, durch  $H_2S$  von überschüssigem Silber und schliesslich durch vorsichtigen Barytwasserzusatz von Schwefelsäure befreit. Die soweit gereinigten Filtrate werden nunmehr auf ein geringes Volumen eingedampft, mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol versetzt<sup>1)</sup>, schnell filtrirt und aus dem Filtrat der Alkohol abdestillirt. Aus der rückständigen Flüssigkeit scheidet sich dann der Mannit in 24—48 Stunden in

<sup>1)</sup> Sollte hierbei, was gewöhnlich nicht geschieht, durch den Alkohol etwas Mannit gefällt werden, so wird der Niederschlag wieder in Wasser gelöst, mit Alkohol gefällt und wie die Hauptmasse weiter verarbeitet.

prismatischen Krystallen aus, welche von der Mutterlauge getrennt, auf Thonplatten getrocknet und durch einmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser oder mässig verdünntem Alkohol, eventuell nach Entfärbung durch Thierkohle rein erhalten werden. Aus den Mutterlauge kann man durch Zusatz von Alkohol und Aether eine weitere Krystallisation gewinnen.

Die so erhaltene Substanz zeigt folgende Eigenschaften: Aus wässriger Lösung krystallisirt sie bei langsamer Verdunstung in wohl ausgebildeten Prismen; aus heisser alkoholischer Lösung scheidet sie sich beim Erkalten fast vollständig in feinen, verfilzten Nadeln aus. In Wasser ist sie leicht löslich, in Aether und kaltem Alkohol unlöslich; heisser, mit wenig Wasser versetzter Alkohol löst merkliche Quantitäten; dergleichen heisser Amylalkohol; die Lösung in letzterer Flüssigkeit erstarrt beim Erkalten zu einem Brei feiner Nadeln. (Reiner käuflicher Mannit zeigt dasselbe Verhalten gegen Amylalkohol.)

Die aus dem Harn dargestellten Krystalle haben einen süssen Geschmack, schmelzen bei  $162-163^{\circ}$  (der Schmelzpunkt des Mannits wird zu  $160-165^{\circ}$  angegeben) und zersetzen sich bei stärkerem Erhitzen unter Auftreten eines charakteristischen Geruches nach Caramel. Sie sind N-frei und enthalten kein Krystallwasser. Mit Kali und Kupfervitriol gibt die Substanz eine tiefblaue Lösung, die beim Erhitzen nicht reducirt wird. Auf die Polarisationsebene ist sie ohne Einwirkung.

Die Elementaranalyse ergab Zahlen, welche mit der Formel  $C_6H_{14}O_6$  übereinstimmen.

Die zu den Analysen Nr. 1 und 2 verwendete Substanz stammte aus dem Harn von Morphinumhunden, zu Nr. 3 aus normalem Hundeharn.

1. 0,2420 gr. bei  $110^{\circ}$  getrocknet, gaben 0,3459  $CO_2$  und 0,1684  $H_2O$ , entspr. 39,0% C und 7,73% H.
2. 0,2580 gr. bei  $110^{\circ}$  getrocknet, gaben 0,3699  $CO_2$  und 0,1812  $H_2O$  entspr. 39,1% C und 7,8% H.

3. 0,2220 gr. bei 110° getrocknet, gaben 0,3205 CO<sub>2</sub> und 0,1580 H<sub>2</sub>O, entspr. 39,36% C und 7,9% H.

Die Formel C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>:

		Gefunden.				
		1.	2.	3.	Verlangt:	
C	39,0	39,1	39,36	C	39,56	
H	7,73	7,8	7,9	H	7,7.	

Die Elementarzusammensetzung, der süsse Geschmack, der Schmelzpunkt, der Caramelgeruch beim Erhitzen, das Verhalten gegen alkalische Kupferlösung etc. machten es schon unzweifelhaft, dass wir es mit Mannit zu thun haben; gleichwohl wurde die Identität noch durch weitere Versuche festgestellt.

Mannit wird, wie noch vor Kurzem Hecht und Iwig<sup>1)</sup> beschrieben, durch übermangansaures Kali im Wesentlichen zu Oxalsäure, Weinsäure und eine zuckerähnliche, alkalische Kupferlösung beim Erwärmen zu Oxydul reducirende Substanz oxydirt.

0,6 gr. unserer Substanz wurden in wässriger Lösung mit Natr. bicarbon. und Kali hypermangan. in den von Hecht und Iwig angegebenen Verhältnissen versetzt; nach beendigter Einwirkung wurde von dem Mangansuperoxyd abfiltrirt: eine Probe des Filtrats gab mit Kali und Kupfersulphat eine blaue Lösung, welche schon bei schwachem Erwärmen Oxydul abschied; die Hauptmasse des Filtrates wurde mit Essigsäure angesäuert und mit essigsauerm Kalk versetzt. Es erschien sofort eine reichlicher, amorpher Niederschlag, welcher sich in verdünnter Salzsäure zum Theil auflöste. Die salzsaure Lösung gab beim vorsichtigen Vermischen mit verdünntem Ammoniak die charakteristischen Krystalle des oxalsauren Kalkes.

Der geringe, in Salzsäure unlösliche Theil des Niederschlages war für eine weitere Untersuchung nicht ausreichend.

Der Nachweis der Oxalsäure und des zuckerähnlichen Oxydationsproduktes beseitigt wohl jeden Zweifel an der Identität unserer Substanz mit Mannit. Uebrigens konnte

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1881, S. 1706.

ich aus ihr auch durch Erhitzen mit starker Salpetersäure Oxalsäure darstellen.

Die oben beschriebene Reaktion, namentlich der Nachweis von Oxalsäure bei der Behandlung mit übermangansaurem Kali gelingt noch mit sehr kleinen Mannitmengen und es schien mir des Versuches werth, ob sich hierauf vielleicht eine einfache Methode zum direkten Nachweis des Mannits im Harn, ohne die sehr umständliche und zeitraubende Isolirung gründen liesse. Dieser Versuch ist indessen nicht gelungen. Es liegt auf der Hand, dass der Harn nicht ohne Weiteres mit Kaliumpermanganat oxydirt werden darf, weil er, abgesehen von seinem Gehalte an Kalkoxalat, eine Reihe normaler Bestandtheile enthält, welche bei der Oxydation Oxalsäure liefern, vor Allem die Harnsäure und das Kreatinin. In der That erhält man, wenn man normalen Urin mit kohlensaurem Natron oder  $\text{NH}_3$  versetzt, von dem Niederschlage abfiltrirt und alsdann mit Kali hypermangan. erwärmt, ein farbloses Filtrat, welches nach dem Ansäuern mit Essigsäure und Hinzufügen von essigsaurem Kalk in wenigen Minuten die schönsten Octäeder von Kalkoxalat ausscheidet. Ich möchte sogar dieses Verfahren zur schnellen Darstellung und Demonstration von Kalkoxalatkrystallen für Vorlesungsversuche empfehlen. Es gelingt in keiner Weise, die Oxalsäure liefernden normalen Harnbestandtheile völlig abzuschneiden; selbst nach sorgfältigster Ausfällung des Urins mit salpetersaurer Quecksilberoxydlösung und Neutralisation mit kohlensaurem Natron, wodurch bekanntlich die N-haltigen Harnbestandtheile nahezu vollständig niedergeschlagen werden, erhält man ein Filtrat, welches in der oben angegebenen Weise behandelt, noch deutliche Mengen von oxalsaurem Kalk liefert.

Es ist somit der Nachweis des Mannits auf diesem Wege nicht zu führen und bei dem Mangel anderer charakteristischer Reaktionen dieses Körpers einzig und allein die Darstellung in Substanz entscheidend.

Es fragt sich nun: Woher stammt der in den Urin übergehende Mannit? Es bestehen offenbar zwei Möglichkeiten:

1. Entweder wird der Mannit mit der Nahrung fertig in den Körper eingeführt, oder
2. er entsteht in letzterem durch Umwandlung anderer Stoffe, wobei selbstverständlich in erster Reihe an die Kohlehydrate gedacht werden muss.

Durch H in statu nasc. bildet sich bekanntlich aus Traubenzucker Mannit. Derselbe entsteht ferner bei manchen Gärungsprozessen, besonders bei der sogenannten schleimigen und Milchsäuregärung oft sehr reichlich. (Bei der schleimigen Gärung der Milch hat dagegen Schmidt-Mühlheim<sup>1)</sup> Mannit nicht nachweisen können.)

Hiernach war die Möglichkeit naheliegend, dass bereits im Darmkanal durch die Einwirkung reducirender Darmgase aus den Kohlehydraten der Nahrung Mannit sich bilde. Reduktionsprozesse ähnlicher Art, welche im Darminhalt sich vollziehen, sind ja zahlreich bekannt; ich erinnere z. B. an die Umwandlung des Bilirubins in Hydrobilirubin, der Chinasäure in Benzoësäure u. s. w. Dieselben werden allerdings vorwiegend nur im Darminhalt der Menschen und namentlich der Herbivoren beobachtet, während bei Hunden z. B. die Reduktion der Chinasäure zu Benzoësäure, wie Stadelmann<sup>2)</sup> nachgewiesen, nicht erfolgt.

Die Versuche, welche ich angestellt habe, um zu erfahren, ob Mannit aus anderen Kohlenhydraten im Organismus der Hunde entsteht, haben durchweg negative Resultate ergeben. Es wurden sämtliche in Betracht kommenden Kohlenhydrate<sup>3)</sup> verfüttert, in erster Reihe natürlich Traubenzucker, sodann Rohrzucker, Milchzucker, reines gekochtes Amylum, reines Dextrin. Keine Versuchsreihe dauerte weniger als acht Tage: die täglich, mit oder ohne Fleisch gereichten

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 27.

<sup>2)</sup> Archiv für experimentelle Pathologie, Bd. X.

<sup>3)</sup> Mit Ausnahme des reinen Fruchtzuckers, von welchem bei dem negativen Ausfall der Versuche mit Rohrzucker, welcher sich bekanntlich in Traubenzucker und Fruchtzucker spaltet, Abstand genommen werden konnte.

Mengen der Kohlenhydrate betragen 100—300 gr. (nur der Milchzucker wurde in diesen Mengen nicht vertragen, erzeugte starke Diarrhoe und konnte deshalb nur in Quantitäten von 30—50 gr. gegeben werden).

Trotzdem habe ich niemals auch nur die geringste Spur von Mannit aus dem Harn darstellen können. Dagegen halte ich es für erwähnenswerth, dass ich wiederholt bei den Versuchen mit Traubenzucker, Rohr- und Milchzucker das Auftreten von Inosit im Harn beobachtete. Die er Körper liess sich aus dem Bleiessigniederschlag leicht in Krystallen darstellen, welche süssen Geschmack zeigten, mit Kali und Kupfersulphat eine blaue, beim Erwärmen unverändert bleibende Lösung und in schönster Weise die Scherer'sche Inositreaktion gaben. Die Menge des Inosits war immer eine geringe.

Ebensowenig wie die Kohlenhydrate, sind die Eiweissstoffe und Fette der Nahrung als Quelle der Mannitbildung anzusehen.

Bei wochenlang fortgesetzter Fütterung mit grossen Quantitäten Fleisch fand sich in der gesammten verarbeiteten Urinmenge keine Spur Mannit weder bei den Morphinumhunden noch bei den normalen Thieren.

Dasselbe negative Resultat bei Zusatz von 200—300 gr. Speck zur täglichen Nahrung

Hiernach blieb nur noch die Möglichkeit bestehen, dass der im Harn auftretende Mannit mit gewissen Nahrungsmitteln fertig gebildet eingeführt wird.

Wie ich bereits im Eingange dieser Arbeit erwähnte, habe ich die Mannitausscheidung bisher nur bei Fütterung mit Brod und Milch oder mit Brod allein beobachtet. Das zu den Versuchen benutzte Brod war ein mässig feines Roggenbrod; es wurde stets aus derselben Quelle bezogen und in täglichen Quantitäten von 100—200 gr. gereicht; die bei seinem Genuss auftretende Manniturie glaube ich als regelmässige Erscheinung bezeichnen zu dürfen; wenn der Mannit bei anderer Nahrung monatelang verschwunden war, kehrte er sofort wieder, sobald die Brodfütterung von Neuem begann.

Es war deshalb zu untersuchen, ob Mannit im Roggenbrode enthalten ist. Diese Untersuchung stiess auf ungewöhnliche Schwierigkeiten: es mussten grösse Quantitäten in Arbeit genommen werden und die bedeutenden Mengen der darin enthaltenen Kohlenhydrate und Eiweissstoffe erwiesen sich für die Abscheidung geringer Mengen von Mannit im höchsten Grade störend. Anfangs ging ich von dem wässrigen Auszuge des Brodes aus, erhielt aber bei dessen Verarbeitung, wie ich es auch anstellen mochte, immer nur syrupöse, CuO reducirende Massen, die in alle Lösungsmittel übergangen, durch kein Fällungsmittel ganz abgeschieden werden konnten. Die Anwendung von Bleizucker, Bleiessig, Thierkohle u. s. w. war gänzlich erfolglos.

Schliesslich gelangte ich aber zum Ziele, indem ich folgenden Weg einschlug:

Das Brod (ca. 3 Pfd.) wurde an der Luft getrocknet und pulverisirt, alsdann wiederholt mit grossen Quantitäten von 80%igem Weingeist ausgekocht, die Lösung, nachdem sie sich geklärt hatte, auf ein kleines Volumen abgedampft und mit absolutem Alkohol extrahirt. Dieser Auszug wurde von Neuem verdunstet, der Rückstand in etwas Wasser gelöst und der Dialyse durch vegetabilisches Pergament unterworfen. Das Dialysat wurde nach möglichster Entfärbung mit Thierkohle eingedampft, abermals mit heissem Alkohol extrahirt, das klare Filtrat mit Aether fraktionirt.

Die erste Aetherfällung ergab nur einen zähen, noch stark gefärbten, syrupösen Niederschlag; die zweite und dritte Fällung desgleichen; jedoch schieden sich bei mehrtägigem Stehen unter Aether an den Wänden des Kolbens Krystalle ab, welche sich durch Schütteln mit Aether zum Theil wenigstens aus dem Gefässe heraus bringen liessen. Die Krystalle wurden nun auf porösen Thonplatten von der anhaltenden syrupösen Masse befreit und aus heissem Alkohol oder Amylalkohol umkrystallisirt. So erhielt ich schliesslich farblose nadelförmige Krystalle, deren Menge freilich zu einer Elementaranalyse nicht ausreichte, deren Verhalten aber, wie ich glaube, ihre Identität mit Mannit unzweifelhaft beweist.

Ihr Geschmack war süß, mit Kali und Kupfersulphat gaben sie eine tiefblaue Lösung, die beim Erhitzen nicht reducirt wurde.

Ihr Schmelzpunkt lag bei ca. 160° C., bei stärkerem Erhitzen im Reagensglase entwickelte sich deutlicher Geruch nach Caramel. Aus heissem Weingeist oder Amylalkohol scheiden sich beim Erkalten in feine Nadeln aus.

Ich zweifle nicht, dass bei fortgesetzter Bemühung sich eine bessere Methode würde auffinden lassen, um den Mannit in reichlicheren Mengen aus Brod zu gewinnen; indessen schien mir das erhaltene Resultat sicher genug, um mich von weiterem Aufwand von Zeit für diese unerquickliche Untersuchung zu dispensiren.

Das Vorkommen von Mannit im Brode ist bisher nicht bekannt gewesen; dagegen finde ich in der Literatur die Angabe, dass das Mutterkorn bisweilen Mannit enthält (Siehe Neues Handwörterbuch der Chemie, Bd. IV, S. 265). Ob nun der Mannitgehalt des Roggenbrodes aus beigemengtem *Secale cornutum* stammt, oder ob er dem reinen Getreidemehl bereits zukommt, müsste durch besondere Untersuchungen ermittelt werden.

Jedenfalls sind die in dem Brode enthaltenen Mannitmengen nicht unbeträchtlich, viel beträchtlicher als es nach den Quantitäten, die ich isoliren konnte, den Anschein hat. Bedenkt man, dass der Mannit, wenn auch viel schwerer oxydirbar, als die Kohlenhydrate, gleichwohl in erheblichen Mengen im Thierkörper zerstört wird, bedenkt man, dass nach Fütterung mit Mannit nur ein kleiner Bruchtheil desselben im Harn erscheint, so muss aus den relativ erheblichen Quantitäten Mannit, die ich bei Brodfütterung im Harn auffand, auf eine ziemlich bedeutende Zufuhr dieses Körpers geschlossen werden.

Meine Versuche haben sich bisher auf Hunde beschränkt, sollen aber auf andere Thierklassen ausgedehnt werden. Nur einmal habe ich ein Kaninchen mehrere Tage lang mit Brod gefüttert, konnte aber in seinem Urin Mannit nicht finden.