

## Ueber einige Chromogene des Harns und deren Derivate.

Von

**P. Plósz.**

(Der Redaktion zugegangen am 6. September 1883).

Die Untersuchungen von Baumann; Brieger und Tiemann haben dargethan, dass das Indigo des Harns durch Oxydation und Zersetzung der Indoxylschwefelsäure entsteht. Nach Entdeckung des Skatols wurde es durch die weiteren Untersuchungen von Brieger<sup>1)</sup> wahrscheinlich gemacht, dass im Harn neben Indoxylschwefelsäure auch Skatoxylschwefelsäure vorhanden ist; der Menschenharn soll sogar mehr skatoxyl- als Indoxylsäure enthalten. Es scheint weiter aus diesen Untersuchungen hervorzugehen, dass die Skatoxylschwefelsäure bei ihrer Zersetzung ein violett gefärbtes Produkt giebt, über dessen Eigenschaften und Zusammensetzung wir bisher jedoch keine näheren Kenntnisse besitzen. Es würde hieraus weiter folgen, dass unter den farbigen Produkten, die man aus menschlichem Harn bei gleichzeitiger Behandlung mit Säure und Oxydationsmittel erhält, auch das Skatolderivat enthalten ist.

Bei der Untersuchung der farbigen Stoffe, die aus dem Harn durch Behandeln mit Säure bei gleichzeitiger Oxydation entstehen, habe ich mehrere Stoffe erhalten, die theilweise bekannt, theilweise unbekannt, doch genügend gekennzeichnet scheinen, um zur weiteren Untersuchung zu dienen.

Erhitzt man menschlichen Harn mit Salzsäure bei Luftzutritt einige Zeit zum Sieden, so erleidet derselbe bekannter-

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. IV, S. 411.

massen eine Farbenveränderung: er wird mehr weniger dunkel gefärbt: einer mehr bräunlich, ein anderer mehr röthlich, manchmal mit einem Stich in's Bläuliche. Nach 10—20 Minuten langem Sieden mit 5—10% HCl scheidet sich aus manchem Harn Indigo in Krystallen und krystallinischen Körnchen aus.

Schüttelte man den braungewordenen Harn mit Aether oder mit Chloroform, so nehmen diese den eventuell vorhandenen Indigo und sehr häufig einen anderen rothen Farbstoff auf. Nicht jeder Harn gibt unter diesen Umständen Indigo, die Indigobildung ist jedoch sehr häufig. Vielleicht noch häufiger beobachtet man dabei die Bildung des anderen rothen Farbstoffs.

Dieser rothe Farbstoff ist identisch mit dem, den ich zuerst als krystallinisches Sediment eines pathologischen Harns beschrieb<sup>1)</sup>. Ich habe bisher diesen Körper in sehr vielen normalen und pathologischen Harnen gefunden, und muss denselben als einen durchaus nicht seltenen Bestandtheil betrachten. Da bisher die chemische Natur und Zusammensetzung dieses Farbstoffs nicht festgestellt ist, so muss ich mich bloß auf die Schilderung einiger charakteristischer Eigenschaften beschränken.

Die ätherische Lösung des Farbstoffs enthält ausserdem noch den Aether gelbfärbende Substanzen, ferner Hippursäure und Benzoösäure, welche aus dieser entstanden ist.

Der gelbfärbende Körper ist z. Th. jedenfalls Urobilin, da dieses beim Erhitzen des Harns mit Säure gebildet wird, und in Aether löslich ist; es ist jedoch nicht unwahrscheinlich, dass ausserdem noch andere unbekanntere, gelblich färbende Substanzen in den Aether übergehen.

Um den rothen Farbstoff, den ich vorläufig Urorubin nenne, von diesen Substanzen zu trennen, kann man den nach Abdestilliren des Aethers zurückbleibenden Rückstand mit heissem Wasser waschen. Das Urorubin ist in Wasser unlöslich, während die Benzoösäure, Hippursäure und die gelben Substanzen ausgewaschen werden.

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VI. H. 6.

Nach gründlichem Waschen wurde der Rückstand abermals in Aether gelöst, filtrirt und diese Lösung mit sehr verdünnter Natronlauge geschüttelt. Beim Auflösen bleiben meistens geringe Spuren von Indigo ungelöst zurück, — der einmal ausgeschieden sich nur langsam in Aether löst, während das Urorubin momentan gelöst wird. Durch die Natronlauge werden die letzten Reste des Urobilin entfernt, während das Urorubin in ätherischer Lösung durch die Lauge nicht angegriffen wird. Die von der wässerigen getrennte ätherische Lösung wurde abdestillirt und der Rückstand auf dem Wasserbade zur Trockene abgedampft.

Die so erhaltene Substanz ist undeutlich krystallinisch. Deutliche mikroskopische Krystalle in Form von rhombischen Plättchen erhält man nur bei sehr langsamen Verdunstungen des Aethers; noch besser aus alkoholischer Lösung. Die Krystalle sind dann gleich denjenigen, die spontan aus manchem Harne bei Luftzutritt sich ausscheiden. Die nach dem Abdampfen zurückbleibende Substanz bildet eine dunkel kirschrothe, spröde Masse. Dieselbe ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Chloroform und besonders in Aether, mit prachtvoll granatrother Farbe. Die ätherische Lösung zeigt starke Absorption des Lichtes von D bis F. Ich habe in meiner ersten Mittheilung zwei Absorptionsstreifen angegeben, von welchen der zweite beiläufig auf F zu liegen käme. Dieser letztere scheint jedoch durch beigemengtes Urobilin bedingt gewesen zu sein, da ich bei urobilinfreien Lösungen diese Verstärkung der Absorption bei F nicht beobachtete. Durch starke Salzsäure und Schwefelsäure wird der Körper auch gelöst, jedoch schon nach kurzem Stehen entfärbt; noch rascher wirkt diesbezüglich die Salpetersäure. Ebenso wirken Alkalien, schon in der Kälte und rascher beim Erhitzen. Durch Reduktion mit Zinn und verdünnter Salzsäure wird der Körper ebenfalls entfärbt.

Es ist mir bisher nicht gelungen, in den Zersetzungsprodukten des Urorubins Skatol nachzuweisen, obwohl ich bei allen Versuchen deutliche Indolreaktion erhielt.

Ich will auf meine bisherigen Versuche kein besonderes

Gewicht legen, und die Frage, ob der Körper ein Skatol-derivat ist oder nicht, vorläufig unberührt lassen; andererseits muss ich jedoch betonen, dass derselbe keinesfalls als identisch betrachtet werden kann mit dem violetten Farbstoff, den Brieger<sup>1)</sup> nach Einführen von Skatol im Hundeharn fand. Brieger's Substanz ist löslich in Wasser und unlöslich in Aether, das Urorubin verhält sich dagegen gerade umgekehrt.

Das Urorubin ist im Harn nicht präformirt vorhanden, sondern wird jedesmal durch Oxydation aus einem bisher unbekanntem Chromogen gebildet. Seine Bildung ist nicht an die saure Reaktion der Harns gebunden, da es bei Luftzutritt auch an der Oberfläche ammoniakalischer Harns sich bildet.

In Folge der Bildung von Indigo und Urorubin lässt sich die Oxydation an Harnen, welche diese Stoffe in grösserer Menge enthalten, an dem Dunkelwerden der Farbe auch ohne chemische Reaktion erkennen. Faulende Harns reduciren jedoch bekanntlich sehr energisch; die Oxydation schreitet deshalb von der Oberfläche nur sehr langsam gegen die tieferen Schichten vor; viel schnellere Oxydation erreicht man deshalb, wenn man den Harn angesäuert der Luft aussetzt, wobei derselbe seine reducirenden Eigenschaften eingebüsst.

Wenn man urorubinhaltenen Harn, der manchmal nur Spuren von Indigo enthält, längere Zeit mit Luft schüttelt, so wird derselbe dunkel gefärbt; schliesst man dann von solchem Harn die Luft ab, so nimmt in Folge der Reduktion die Flüssigkeit wieder die ursprüngliche helle Farbe an, um bei Luftzutritt wieder dunkelfarbig zu werden. Das Urorubin besitzt demnach ebenso wie das Indigo, die Fähigkeit durch Sauerstoffentziehung entfärbt und durch Oxydation wieder reconstruirt zu werden.

Ich habe bisher das Urorubin immer in Begleitung von Indigo gefunden. In manchem Harn ist das Indigo, in anderen jener Farbstoff überwiegend. Er scheint demnach

<sup>1)</sup> Brieger; Loc. cit.

im Organismus unter ähnlichen Bedingungen wie das Indigo zu entstehen.

Ich fand es in grösserer Menge bei verschiedenen Kranken, deren Verdauung darniederlag; so z. B. bei einer an schwerer Hysterie Leidenden, die wöchentlich höchstens eine Stuhlentleerung hatte, und seit Monaten mit dem Schlundrohre bloss durch Milch ernährt wurde. Eine noch grössere Ausbeute ergab der Harn einer Patientin, die an einer rasch tödtlichen Darmverschliessung mit Ileus litt; ausserdem geben aber auch Harn anderer Krankheitsfälle von chronischen Magen- und Darmkatarrhen oft sehr bedeutende Mengen. Ueberhaupt scheint es sich in allen Fällen zu bilden, wo animalische Nahrungsmittel im Darne nicht verdaut werden, sondern der Fäulniss anheimfallen. Bei einem Versuche, den Herr Stud. v. Udránszky an sich selbst anstellte, schwand das Urorubin aus dem Harn bei mässigem Genusse von hauptsächlich vegetabilischer Nahrung fast gänzlich, während dasselbe bei Einnahme von viel Fleisch sofort wieder in grosser Menge erschien.

Es sind über Vorkommen und Natur dieses Körpers in meinem Laboratorium weitere Versuche im Zuge, über die seiner Zeit berichtet werden wird.

## II.

Der mit Salzsäure gekochte und an Urorubin und Indigo erschöpfte Harn erscheint noch gewöhnlich immer stark dunkel gefärbt. Die braune Farbe desselben lässt sich mittelst Amylalkohol vollständig entfernen, wobei der Amylalkohol sich entsprechend färbt, und wie es sich beim Abdestilliren zeigt, bedeutende Mengen eines braun-schwarzen Körpers aufnimmt.

Der Körper ist im Wesentlichen jedenfalls identisch mit der Substanz, die Heller seinerzeit Urrhodin, Thudichum Uromelanin genannt hat; nachdem auch diese Stoffe aus dem Harn durch Säurewirkung erhalten wurden. Der Weg, den ich zur Isolirung einschlug, ist ähnlich dem, den Rabuteau<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Gazette medical de Paris 1875. n<sup>o</sup> 27.

vor einigen Jahren benutzte, und ich konnte auch die meisten Punkte dieser Untersuchung bestätigen.

Die Substanz fehlt aus keinem Harn, den wir diesbezüglich untersuchten, bildet demnach ein aus jedem, sowohl normalem als pathologischem Harn zu erhaltendes constantes Produkt, und ist aus dem Harn meistens in ziemlich bedeutender Menge zu erhalten; in jedem Falle in viel grösserer Menge als Indigo und Urorubin zusammen.

Die Substanz entsteht im Harn durch Oxydation, die, wie es scheint, nur bei stark saurer Reaktion eintritt. Die Oxydation geht, wenngleich viel langsamer, auch in der Kälte vor sich. Durch Erwärmen wird dieselbe bedeutend beschleunigt; wird jedoch auch beim Sieden nicht sofort auf einmal beendet. Es färbt sich deshalb der durch Amylalkohol entfärbte Harn beim Erhitzen, oder längerem Stehen an der Luft wiederholt braun, und erst nachdem derselbe mehrmals mit Amylalkohol entfärbt wurde, verliert er die Eigenschaft an der Luft braun zu werden.

Der Harn enthält demnach, wie aus diesen Beobachtungen hervorgeht, eine Substanz, die an und für sich nicht farbige ist, und nach dem Erhitzen mit Säure ein farbiges Produkt erzeugt, welches in Amylalkohol überführt werden kann. Der Amylalkohol löst nicht nur das farbiges Produkt, sondern auch das farblose Chromogen desselben. Schüttelt man den Harn mit Amylalkohol, ohne denselben anzusäuern, so bleibt der Alkohol farblos, färbt sich jedoch sofort braun, wenn derselbe angesäuert und bei Luftzutritt erhitzt wird, und hinterlässt dann beim Abdampfen einen braunen Rückstand, der in allen Eigenschaften identisch ist mit dem, welchen man aus der schon ursprünglich braunen Amyllösung erhält.

Auch das Chromogen des Farbstoffs lässt sich aus dem Harn nach und nach vollkommen entfernen, so dass ein solcher Harn nach dem Ansäuern an den Amylalkohol keinen braunen Farbstoff mehr abgibt.

Ich habe bisher nicht versucht, aus dem Amylalkohol das Chromogen selbst darzustellen, sondern blos die Eigen-

schaften des braunen Derivates untersucht. Es wurde zu diesem Zweck der Harn mit 5—10% HCl während mehreren Minuten zum Sieden erhitzt und hierauf wiederholt, so oft mit Amylalkohol ausgezogen als derselbe noch wesentliche Mengen aufnahm. Es zeigte sich nämlich, dass es nicht nothwendig ist, aus dem Harn den Indigo und das Urorubin vorausgehend zu entfernen, da diese in Amylalkohol nicht löslich sind, und etwa übergelassene Spuren viel leichter nachträglich zu entfernen sind, indem man den Abdampfungsrückstand mit Aether oder schwacher Natronlauge wäscht.

Die vereinigten Auszüge wurden hierauf aus der Retorte abdestillirt. Der schwarz-braune Rückstand, der nach dem Abdestilliren des Amylalkohols zurückbleibt, enthält noch verschiedene in Wasser lösliche Stoffe; so namentlich Urobilin, Spuren von Salzen und verschiedenen organischen Substanzen; derselbe wurde deshalb solange mit Wasser, dann mit schwacher Natronlauge und Salzsäure gewaschen, als diese etwas aufnahmen. Es blieben dann dünne Lamellen eines glänzenden, schwarzen, spröden, nicht zähen, leicht zerreiblichen Körpers zurück, der vollständig aschefrei ist.

Die Substanz, die ich vorläufig Uromelanin nennen will, ist in Wasser und verdünnten Säuren ganz unlöslich. Starke Essigsäure und Salzsäure lösen nur wenig, mehr wird gelöst durch concentrirte Schwefelsäure, Aether und Chloroform lösen fast gar nichts, Alkohol etwas mehr, noch mehr löst sich in Amylalkohol, der sich nach längerem Stehen dunkel roth-braun färbt. Starke Natronlauge löst beim Sieden ziemliche Mengen, Ammoniak weniger. Concentrirte Salpetersäure löst das Uromelanin beim Sieden zur hell kirsch-rothen Flüssigkeit, wobei dieselbe wahrscheinlich zersetzt wird, da ein Theil derselben als gelbliche harzige Masse zurückbleibt, die in Salpetersäure vollständig unlöslich ist. Die salpetersaure Lösung wird beim Verdünnen mit Wasser gefällt, wobei ein rother flockiger Niederschlag und darüber eine vollständig farblose Flüssigkeit entsteht. Die Lösung in Natronlauge wird durch Kochen mit Zinkstaub entfärbt.

Das Uromelanin liefert bei der trockenen Destillation

ein stark pyrrhollhaltiges Destillat (so wie das Hämatin und dessen Derivate).

Es scheint, dass das Uromelanin indem es aus dem Chromogen entsteht, nicht sofort in der beschriebenen schwerlöslichen Form auftritt, sondern dass sich zuerst ein auch in Amylalkohol mehr lösliches Übergangsprodukt bildet und dieses erst beim Abdampfen der Amylalkohollösung in den schwerlöslichen Körper übergeht.

Das Uromelanin ist ohne Ausnahme aus jedem Harn darstellbar und bildet demnach einen constanten Harnbestandtheil. Die Menge desselben ist wechselnd, im Allgemeinen jedoch immer sehr bedeutend. Nach den bisherigen Bestimmungen, die in meinem Laboratorium durch v. Udránszky angestellt wurden, beträgt dieselbe in der täglichen Harnmenge bis zu 5—6 gr. und darüber, so dass das Uromelanin unter den organischen Stoffen an Menge unmittelbar nach dem Harnstoff folgen und jeden der übrigen organischen Körper bedeutend übertreffen würde.

Ich habe in dem Angeführten die Darstellungsweise und Eigenschaften des Uromelanin beschrieben, ohne bisher die Hauptfrage zu berühren, nämlich die: in wiefern die Substanz als einheitlicher chemischer Körper oder aber als Gemenge mehrerer zu betrachten ist?

Nachdem dieselbe bisher nicht krystallinisch erhalten wurde, und auch die chemische Zusammensetzung nicht festgestellt ist, mag der Verdacht allerdings gerechtfertigt sein, dass man es hier mit einem Gemenge verschiedener Zersetzungsprodukte zu thun hat. Dem gegenüber muss aber betont werden, dass sowohl die Reaktionen als auch die sehr bedeutende Menge des Körpers für die einheitliche Natur sprechen. Von den Reaktionen sind es besonders die Schwerlöslichkeit, das Verhalten gegen Salpetersäure und der Umstand, dass die Substanz aschefrei ist, diejenigen, welche Argumente für die chemische Einheit bilden. Die Darstellungsweise schliesst zwar Zersetzungen nicht aus, es sind aber die Körper im Harn nicht bekannt, welche bei dieser Behandlung

so grosse Mengen unlöslicher Zersetzungsprodukte liefern könnten; die nähere Untersuchung ist demnach auch von diesem Gesichtspunkte aus geboten.

Obwohl die Möglichkeit, wonach der Amylalkohol bei der Bildung der Substanz sich mitbetheiligt, schon von vornherein wenig Wahrscheinlichkeit zu haben schien, so stellte ich doch einige Versuche an, um zu erfahren, ob nicht aus dem Uromelanin durch Hydratation Amylalkohol erhalten werden kann; alle diesbezüglichen bisherigen Versuche gaben ein negatives Resultat. Das Uromelanin erwies sich dabei als ein sehr indifferenten, resistenter Körper, der im zugeschmolzenen Rohr durch alkoholische Kalilauge bei 150–160° wenig angegriffen wurde und unter diesen Umständen niemals Amylalkohol lieferte; der ferner auch durch schmelzendes Kalihydrat nur sehr langsam angegriffen wird. Es scheint demnach die Betheiligung des Amylalkohols bei der Bildung des Uromelanins ausschliessbar zu sein, und das Uromelanin oder resp. das Chromogen desselben muss als ein dem Harn selbst angehöriger Körper angesehen werden.

Es mag jedenfalls auffallend sein, dass im Harn ein nicht näher bekannter Körper von so bedeutender Menge enthalten sein soll. Diesbezüglich muss jedoch einer alten Beobachtung Voit's erinnert werden. Voit<sup>1)</sup> fand nämlich, dass im Hundeharn die Menge des nicht in Form von Harnstoff ausgeschiedenen Kohlenstoffs bis 12 gr. pro Tag betragen kann, welchen hohen Kohlenstoffgehalt die bisher bekannten, im Harn, ausser Harnstoff vorkommenden Körper bei Weitem nicht erklären.

Für den Harn des Menschen liegen keine solche Beobachtungen vor; der Hundeharn enthält jedoch, bei gemischtem Futter, sowie der des Menschen, bedeutende Mengen von Uromelanin, dessen Kohlenstoff den Ausfall ganz oder zum grossen Theil zu decken im Stande ist.

Bezüglich der ausgeschiedenen Menge scheint das Uromelanin sich ähnlich zu verhalten, wie es Voit vom Kohlenstoffüberschuss angiebt. Es scheint in grösster Menge bei

<sup>1)</sup> Zeitschrift für Biologie, Bd. I, S. 146.

Fleischnahrung oder bei ungenügender Ernährung aufzutreten. Es wäre demnach ein Produkt, das sich bei Zersetzung thierischer Organe und Gewebe bildet. Im Harn eines wohlgenährten Vegetariers fand ich nur sehr geringe Mengen, während bei gemischter, jedoch hauptsächlich aus Fleisch bestehender Nahrung immer grosse Mengen erscheinen. Der concentrirte Harn Fieberkranker, sowie der an Inanition Leidender (Magenkrebs) enthält relativ noch viel mehr als der von Gesunden. Das Uromelanin ist auch in solchem Harn vorhanden, welcher keinen Indigo oder Urorubin liefert. Directe Beziehungen zwischen diesen und dem Uromelanin scheinen demnach nicht zu bestehen; namentlich ist das Chromogen des Uromelanins von demjenigen der beiden anderen Körper ganz bestimmt verschieden.

Es wurde Eingangs dieser Zeilen erwähnt, dass der Rückstand, den man beim Abdampfen der amylnalkoholischen Lösung des Uromelanins gewinnt, ausser dem Uromelanin eine geringe Menge anderer in Wasser löslicher Stoffe, namentlich Urobilin oder ursprünglich vielleicht das Chromogen desselben enthält. Das Waschwasser, welches man beim Waschen des Rückstandes erhält, besitzt schön goldgelbe Farbe. Durch Schütteln mit Amylnalkohol wird der Farbstoff der wässrigen Flüssigkeit entzogen und die gelbe Amylnalkohollösung zeigt dann sofort oder nach kurzem Stehen starke grüne Fluorescenz und im Spectroskop sehr deutlich die Absorptionserscheinungen des Urobilins. Es scheint das ein nicht unbequemes Verfahren zur Isolirung, resp. Nachweis des Urobilins abzugeben.