

Ist anzunehmen, dass der normale menschliche Harn Cystin oder diesem nahestehende Verbindungen enthalte?

Von

Dr. Stadthagen, pr. Arzt.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 3. November 1884.)

Gelegentlich der Analyse eines Cystinharns, über welche ich demnächst berichten werde, versuchte ich es, mich darüber zu informiren, ob auch im normalen Harn Cystin oder ihm nahestehende Verbindungen enthalten seien, und welcher Antheil an dem Schwefelgehalt des Harns ihnen eventuell zukommen möchte. Es ist ja bekannt, dass der Harn neben der präformirten und gebundenen Schwefelsäure — dem sauren Schwefel — noch schwefelhaltige organische Körper in nicht unbeträchtlicher Menge enthalte. Nach einer von Salkowski angestellten Versuchsreihe beträgt dieser — von ihm neutral genannte Schwefel — durchschnittlich 0,158 gr. pro die — etwa $\frac{1}{5}$ der Gesamtschwefelsäure; die ihm als Mittel 0,807 gr. ergab¹⁾. (Eine Anzahl eigener Bestimmungen haben mir etwas geringere Werthe für den neutralen Schwefel ergeben.) Munk²⁾ und Gscheidlen³⁾ haben nun Rhodan-Verbindungen im menschlichen Harn nachgewiesen, — welche Munk auf 0,11, Gscheidlen zu 0,0314 NaCNS in 1 Liter

1) Salkowski und Leube: Die Lehre vom Harn, S. 162.

2) Virchow's Archiv, Bd. 69, S. 354.

3) Pflüger's Archiv, Bd. 14, S. 401.

Harn berechnet. — Die Menge des darin enthaltenen Schwefels repräsentirt jedoch, wenn wir auch Munk's Zahlen unserer Berechnung zu Grunde legen, nur etwas über ein Dritteltheil des neutralen Schwefels. Weiter liegt eine Angabe von Salkowski¹⁾ vor, dass er aus normalem Harn geringe Mengen einer schwefel- und stickstoffhaltigen Säure isolirt habe, welche die H_2S -Reaktion nicht liefere. Salkowski vermuthet, dass sie mit der Taurocarbaminsäure identisch sei; doch war die Ausbeute für eine Analyse zu gering. Immerhin bleibt ein grosser Theil des neutralen Schwefels noch unerklärt. Der Gedanke liegt jedenfalls sehr nahe, dieses Deficit mit dem durch Schwefelreichthum ausgezeichneten Cystin in Zusammenhang zu bringen. In der That wird auch von verschiedenen Autoren, so z. B. Salkowski²⁾, an dieser Vermuthung festgehalten. Ich will die Gründe, welche für die Richtigkeit derselben sprechen, nicht weiter erörtern, und nur erwähnen, dass u. A. Mauthner auch für die von Haas entdeckte Eigenschaft des normalen Harns, die Polarisationsebene links zu drehen, auf das stark linksdrehende Cystin seine Vermuthung lenkt³⁾. Auf der anderen Seite wird von Külz auf Grund seiner Untersuchungen das Vorkommen von Cystin im normalen Menschen- (und Rinder-) Harn direkt geleugnet⁴⁾. Dass Cystin selbst in irgend grösserer Menge im menschlichen Harn enthalten sein könne, ist bei seiner ausserordentlich geringen Löslichkeit in diesem wohl von vornherein als ausgeschlossen zu betrachten. Sicher würden wir sonst häufiger im Sedimente dem Cystin begegnen. Dagegen wäre es ja denkbar, dass dem Cystin nahestehende Verbindungen, welche eine grössere Löslichkeit im Harn besitzen, in diesem vorkämen.

Ehe ich hierauf eingehe, sei es mir gestattet, ein paar Bemerkungen vorzuschicken:

Wie allgemein bekannt, wird beim Kochen des Cystins

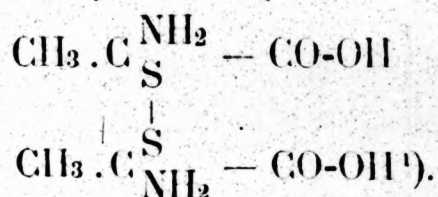
1) Virchow's Archiv, Bd. 58, S. 501.

2) Salkowski und Leube: Die Lehre vom Harn, S. 161.

3) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 225.

4) Marburger Sitzungsberichte, 1875, S. 77.

mit wässrigen fixen Alkalien Schwefelmetall gebildet. Diese Abspaltung des Schwefels geschieht schon nach kurzer Zeit glatt und vollständig. Hat man vor dem Kochen mit Kalilauge einen Tropfen essigsäuren Bleis zugesetzt, so kann man sich leicht überzeugen, — wenn man das Filtrat vom Schwefelblei eindampft und mit Soda und Salpeter schmilzt, — dass aller Schwefel in Schwefelmetall umgewandelt sei. Wie das Cystin selbst, so werden auch viele dem Cystin nahestehenden Körper dieselbe Reaktion liefern, d. h. solche Verbindungen, in welchen der Cystinschwefel eine wesentliche Veränderung, sei es Oxydation, sei es Umlagerung im Molekül nicht erfahren hat. Nach Baumann ist die Constitutionsformel des Cystins:



Es würde also z. B. von dem entsprechenden Mono-sulfid und Mercaptan (Cystein «Baumann»), ebenso von der Thiomilchsäure, — deren Formel aus der des Cysteins durch Ersetzung der NH_2 -Gruppe durch 1 H-Atom erhalten wird — u. s. w., das gleiche Verhalten zu erwarten sein. Wohlgemerkt ist hier, wie im Folgenden, nur von freien, nicht in Verbindungen enthaltenen Cystinkörpern die Rede. Substituirte Cystine werden wahrscheinlich je nach der Art der Verbindung sich verschieden verhalten. Bisher liegt nur die Angabe von Baumann und Preusse²⁾ vor, dass das Bromphenylcystein bei der erwähnten Behandlung Bromphenylmercaptan in annähernd theoretischen Verhältnissen liefere.

Bei der Aufsuchung des (freien) Cystins oder ihm nahestehender Verbindungen, liegt es nahe, sich jenes oben-erwähnten Verhaltens, der Bildung von Schwefelblei, beim Kochen mit Kalilauge und Bleilösungen zur Orientirung zu bedienen.

1) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 302.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 322.

Ich habe nun Niederschläge aus sehr grossen Mengen normalen Harns mit den verschiedensten Reagentien, — als Bleiacetat, basisches Bleiacetat, — allein oder mit Ammoniak, — Phosphorwolframsäure, Sublimat, Argent. nitric. etc. hergestellt, ich habe, mit dem erwähnten Leitfaden an der Hand, diese Niederschläge, sowie ihre Filtrate, ebenso die verschiedensten Auszüge mit Alkohol, Aether, Amylalkohol, Chloroform etc. von sauer und alkalisch gemachten Harnrückständen untersucht, ohne zu einem positiven Ergebnis zu gelangen.

Beiläufig sei bemerkt, dass ich auch in einem Cystin-harne nach einer schwefelhaltigen Säure gesucht habe, die zu dem Cystin in ähnlichen Beziehungen stehen möchte wie die von Jaffe und Baumann dargestellte Phenylmercaptursäure zum Phenyleystein. (Beim Kochen der Säure mit verdünnter Schwefelsäure wird Phenyleystein und Essigsäure gebildet.)

Ich wählte zur Aufsuchung das Verfahren, welches Jaffe zur Darstellung der Bromphenylmercaptursäure benutzt hatte¹⁾, — habe aber keinen solchen Körper gefunden. Angesichts dieser Misserfolge versuchte ich es, mir auf indirektem Wege Aufklärung zu verschaffen.

Wie oben erwähnt, wird der Schwefel des Cystins beim Kochen mit Kalilauge quantitativ als Schwefelalkali erhalten. Sind also Cystin oder solche Körper, welche wir oben als ihm nahestehende bezeichnet haben, im normalen Harn enthalten, so muss beim Kochen desselben mit fixen Alkalien die entsprechende Menge Schwefelmetall gebildet werden. Es war also die Aufgabe, dieses Letztere zu bestimmen. War das Resultat ganz negativ, so war damit auch erwiesen, dass die uns interessirenden Körper nicht vorhanden seien; im anderen Falle konnte das neugebildete Schwefelmetall irgend anderen Körpern seine Entstehung verdanken, doch liess

¹⁾ Der eingedampfte Harn wird mit Alkohol extrahirt, die eingeeugte alkoholische Lösung mit Schwefelsäure stark angesäuert und, mit Aether ausgeschüttelt (Baumann und Preusse; Diese Zeitschrift Bd. V, S. 312).

sich wenigstens durch quantitative Bestimmung des darin enthaltenen Schwefels angeben, welchen Antheil die Cystinkörper in maximo an dem Schwefelgehalt des Harns haben können.

Da der menschliche Harn sowohl Sulfate als Rhodanverbindungen und Taurinderivate enthält, so kommen für das gleich zu erörternde Verfahren folgende Thatsachen in Betracht.

Verdünnte Schwefelsäure entwickelt mit metallischem Zink weder in der Kälte, noch beim Erwärmen H_2S (auch nicht bei Gegenwart organischer Substanz).

Blei- und Zinksalze fällen Rhodan aus seinen Lösungen; die Niederschläge lösen sich schon in der Kälte, schneller noch beim Erwärmen in überschüssiger Essigsäure oder Natronlauge (besonders leicht in ersterer). Der Schwefel des Rhodan wird beim Kochen mit Kalilauge nicht angegriffen; (erst bei höheren Temperaturen wird Schwefelalkali gebildet). Dagegen entwickelt, wie bekannt, Rhodan beim Digeriren mit Zink und Salzsäure H_2S .

Taurin gibt weder die H_2S -Reaction, noch wird sein Schwefel durch Kochen mit Natronlauge abgespalten.

Für die Bestimmung verfuhr ich in folgender Weise: 1—2 Liter Harn werden mit Kalilauge stark alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade zur Syrupconsistenz gedampft; nach Zusatz einiger Tropfen einer alkalischen Bleihydratlösung durch etwa $\frac{1}{4}$ Stunde auf freiem Feuer gekocht. Von Zeit zu Zeit wird zweckmässig das verdampfende Wasser ersetzt, um ein Glühen an den Rändern zu vermeiden (damit nicht auch Rhodan zerlegt werde). Dann wird, um das etwa neugebildete Schwefelblei vom Rhodanblei zu trennen, die alkalische Lösung mit verdünnter Essigsäure übersättigt, erwärmt, die Essigsäure ohne Aufrühren des Niederschlages von diesem durch ein Filter abgossen und diese Decantation nochmals wiederholt. Jetzt wird der Niederschlag auf das Filter gebracht und auf diesem mit Essigsäure gewaschen, bis diese nicht mehr bleihaltig abfließt. Der Niederschlag ist dann frei von Rhodanverbindungen. Nun wird er mit dem Filter und etwas metallischem Zink in einen

grossen Kolben gethan, der mit einem dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen ist, und in Wasser suspendirt. Hinter dem Kolben befinden sich 1 oder zweckmässiger 2 kleine Kölbchen mit gelöstem Silbernitrat, während vor ihm ein mit verdünnter Natronlauge gefülltes Gefäss liegt (um die durchstreichende Luft vor ihrem Eintritt in den Kolben vom H_2S zu befreien). Die dritte Durchbohrung des Stopfens ist zur Aufnahme eines kleinen mit Salzsäure gefüllten Scheidetrichters bestimmt. Im Moment, wo die Operation beginnen soll, lässt man die Salzsäure in den Kolben zu dem Niederschlage einfliessen. Zweckmässig ist es, während der ganzen Dauer der H_2S -Entwicklung den Kolben auf dem Wasserbade zu erwärmen. Zum Schlusse der Operation wird Luft in mässig starkem Strome durch den ganzen Apparat gesaugt.

Ein grosser Uebelstand ist hierbei, dass es sehr schwierig ist, vollkommen schwefelfreies Zink zu erhalten. Jedenfalls muss man durch sorgfältige Vorversuche sich von der Reinheit des Metalls überzeugen. Ich habe es deshalb später vorgezogen, statt der Bleilösung eine Lösung von Zinkhydrat in Natronlauge zu verwenden. Nach dem Kochen des Harns mit dieser Lösung wird etwas Salmiaklösung hinzugefügt, 24 Stunden stehen gelassen. Zur Entfernung des Rhodanzinks aus dem gebildeten Niederschlage wird letzterer mit Natronlauge und etwas Salmiaklösung gewaschen, sonst wie oben verfahren. Da das Auswaschen des Schwefelzinks aber in dieser Weise etwas schwierig gelingt, habe ich schliesslich auch zum Auflösen des Rhodanzinks verdünnte Essigsäure verwendet. Schwefelzink ist in verdünnter Essigsäure ja nahezu unlöslich. Zur H_2S -Entwicklung aus den Zinkniederschlägen wird statt der Salzsäure zweckmässig Schwefelsäure genommen.

Regelmässig bildet sich in der salpetersauren Silberlösung ein dunkler Niederschlag. Dieser wird auf aschefreiem Filter gesammelt, mit Soda und Salpeter geschmolzen, die Schmelze in Wasser gelöst, filtrirt und im Filtrat mit Baryumchlorid auf Schwefelsäure geprüft. Das Resultat der erwähnten Methoden war ein durchaus übereinstimmendes.

Während in zwei Fällen das Endergebniss ein ganz negatives war, erhielt ich in zehn anderen 1—4 mlgr. im Durchschnitt aus allen zwölf Proben 2 mlgr. BaSO_4 pro Liter. Die hieraus berechnete Menge Schwefels würde also weniger als 0,3 mlgr. pro Liter betragen. Es ist nicht ausgeschlossen, dass diese Spuren Schwefel von Albuminstoffen herrühren. Wie dem aber auch sein mag, Cystin oder ihm nahestehende Körper sind nach obigem Ergebniss im normalen Harn entweder gar nicht vorhanden, oder doch nur in äusserst minimaler Menge. Keinesfalls ist ihre Anwesenheit ausreichend, das neben dem Rhodan (und Taurin) noch vorhandene Deficit des neutralen Schwefels zu decken¹⁾.

Auch der folgende Versuch spricht, wie mir scheint, gegen die Anwesenheit von cystinartigen Körpern im normalen Harn.

Wie Sertoli, Schönbein u. A. beobachtet haben, entwickelt der Harn mit Zink und Salzsäure neben Wasserstoff Schwefelwasserstoff. Munk und Gscheidlen haben nachgewiesen, dass an dieser Reaktion das Rhodan beteiligt sei.

Nach Dewar und Gamgee gibt auch Cystin die H_2S -Reaktion. Külz²⁾ hat diese Angabe bestätigt, Baumann sie aber dahin berichtigt, dass nur ein sehr kleiner Theil des Cystinschwefels durch den nascirenden Wasserstoff in H_2S verwandelt werde, der grössere Theil des Cystins dagegen in einen neuen basischen Körper $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (Cystein) umgewandelt werde, dessen wässerige Lösung wieder in Cystin übergeht³⁾. Immerhin bleibt die Entwicklung von Schwefelwasserstoff deutlich nachweisbar, auch wenn man

1) Wie bekannt, tritt beim Kochen des Harns mit Natronlauge und basisch salpetersaurem Wismuthoxyd in jedem normalen Harn, wofern man nur lange genug erhitzt, Schwärzung ein, die in einzelnen Harnen sehr intensiv sein kann. Diese Schwärzung beruht nach dem Gesagten nicht auf Bildung von Schwefelwismuth. Ein Theil dieser schwarzen Masse scheint aus organischen Verbindungen zu bestehen.

2) Külz: l. cit., S. 74.

3) Diese Zeitschrift. Bd. VIII, S. 300.

nur ganz minimale Mengen Cystin verwendet. Jedenfalls müsste also, wenn (freies) Cystin oder die oben erwähnten ihm analog zusammengesetzten Körper vorhanden wären, der Harn auch nach Entfernung des Rhodans noch die H_2S -Reaktion geben. Zur Trennung des Cystins vom Rhodan kann man sich des salpetersauren Silbers bedienen. Dieses fällt, wie bekannt, Rhodan aus salpetersaurer Lösung, während Cystin zwar gefällt, sofort aber wieder aufgelöst wird. Ich verfuhr also in folgender Weise:

Etwa zwei Liter Harn werden zur dicken Syrupconsistenz eingedampft, mit Salpetersäure angesäuert, Chloride und Rhodan durch salpetersaure Silberlösung gefällt, vom Niederschlage abfiltrirt.

Das Filtrat wird in einen grossen Kolben gebracht, durch kohlen-saures Natron neutralisirt, mit Wasser auf ca. 4 Liter verdünnt und (reines) Zink und Salzsäure hinzugefügt. Um zu starkes Erwärmen beim Zusatz von HCl zu vermeiden, wird während desselben der Kolben durch Eiswasser gekühlt. Die sich in dem Kolben entwickelnden Gase streichen durch eine enge Oeffnung des Halses, in welcher ein mit essigsaurem Blei getränkter Streifen Fließpapier liegt. Die stark verdünnte Salpetersäure stört durch ihre Anwesenheit die H_2S -Reaktion in keiner Weise; wohl aber misslingt diese bei Gegenwart concentrirter Salpetersäure. Es ist deshalb nöthig, wie erwähnt, die Säure abzustumpfen und zu verdünnen.

Weder sofort noch nach drei Stunden hat sich eine Spur von Schwefelblei gebildet. Der Kolben wird jetzt auf dem Wasserbade leicht erwärmt; nach weiteren drei Stunden zeigt sich dasselbe negative Resultat.

Zur Controlle wird jetzt etwas unveränderter Harn zugesetzt und sofort entwickelt sich H_2S .

Es scheint also, dass neben dem Rhodan kein anderer Körper im Harn vorhanden sei, welcher die H_2S -Reaktion liefert, also — glaube ich folgern zu dürfen — auch kein (nicht substituirtes) Cystin.

Nach dem Gesagten ist es auch nicht wahrscheinlich, dass der noch ungekannte linksdrehende Körper von Haas mit dem Cystin in Zusammenhange stehe¹⁾.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Dr. Kossel, dem Leiter der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts, sowie Herrn Dr. Herter, in dessen Privatlaboratorium ich einen Theil der Versuche gemacht habe; meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

¹⁾ Beiläufig sei bemerkt, dass dieser Körper vollständig in den alkoholischen Harnauszug übergeht, während Cystin in Alkohol unlöslich ist.