

Untersuchungen über die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des normalen Harnes.

Von

M. Flückiger.

(Der Redaktion zugegangen am 2. Februar 1885.)

A. Historische Uebersicht.

I. Glycuronsäureverbindungen.

Unsere Kenntniss der Stoffwechselforgänge des menschlichen Organismus ist in den letzten 10 Jahren durch die Entdeckung der gepaarten Glycuronsäuren um ein ganz neues Gebiet bereichert worden. Diese Verbindungen fielen zunächst auf durch ihre Fähigkeit, Kupferoxydhydrat in alcalischer Lösung zu reduciren und die Ebene des polarisirten Lichtes nach links zu drehen, und durch ihr Unvermögen, bei Zusatz von Hefe Kohlensäure zu entwickeln; ferner durch caramelartigen Geruch der Verbrennungsproducte.

Eine solche Substanz rein krystallisirt darzustellen, gelang zuerst von Mering und Musculus¹⁾ 1875; sie erhielten aus dem Harn von Menschen, denen Chloralhydrat verabreicht wurde, die Urochloralsäure, eine Säure, welcher die genannten Eigenschaften zukamen; die Analyse ergab die Formel $C^7H^{12}Cl^2O^6$. Ihre Beziehung zu der damals noch unbekanntem Glycuronsäure wurde erst 6 Jahre später, nachdem inzwischen diese Säure von Jaffe und Schmiedeberg beschrieben und in mehreren Verbindungen nachgewiesen worden war, festgestellt.

Jaffe²⁾ fand 1878, dass Orthonitrotoluol im Organismus zum kleineren Theil in Orthonitrobenzoesäure, zum grösseren in eine in Aether unlösliche, stark linksdrehende und Kupferoxyd reducirende Säure $C^{14}H^{19}N^3O^{10}$ überging, die er in

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. VIII, S. 622.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. II, S. 47.

Harnstoff und Uronitrotoluolsäure $C^{13}H^{15}NO^9$ zerlegen konnte. Diese letztere spaltete sich bei der Behandlung mit 20 procent. Schwefelsäure in 2 Bestandtheile, deren einer, der bisher unbekannte Orthonitrobenzylalcohol, in Aether überging, während in der wässerigen Lösung eine linksdrehende, Kupferoxyd reducirende, nicht gährungsfähige Säure zurückblieb, deren Isolirung nicht gelang. Sie drehte die Polarisations-ebene weniger stark nach links, als die Uronitrotoluolsäure. Als ihre wahrscheinliche Formel gab Jaffe $C^6H^{10}O^7$ an und sprach schon damals die später bestätigte Vermuthung aus, dass in der Urochloralsäure ebenso, wie in der von Wiedemann nach Campherfütterung im Hundeharn gefundenen linksdrehenden Substanz, dieselbe hypothetische Säure als Paarling enthalten sein möge.

Reindargestellt und analysirt wurde dann die fragliche Säure zum ersten Mal von Schmiedeberg und Meyer ¹⁾ Diese beiden Autoren erhielten als Stoffwechselproducte des Camphers: 1. eine krystallisirte α -Camphoglycuronsäure, 2. eine amorphe, procentisch gleich zusammengesetzte, β -Camphoglycuronsäure und 3. eine stickstoffhaltige Uramidocamphoglycuronsäure. Die erste dieser Säuren spaltete sich beim Erhitzen mit 5 procentiger Schwefelsäure in Campherol $C^{10}H^{16}O^2$ und eine in Aether unlösliche Säure, deren Bleisalz aus wässriger Lösung durch Alcohol in Krystallform gefällt wurde. Aus der Analyse des Bariumsalzes ergab sich für die Säure, welcher der Name Glycuronsäure zugelegt wurde, die Formel $C^6H^{10}O^7$, in Uebereinstimmung mit der von Jaffe vermutheten. Sie dreht die Polarisations-ebene nach rechts (die Linksdrehung der Jaffe'schen Säure erklärt sich wahrscheinlich durch Beimengung von Uronitrotoluolsäure), reducirt Kupferoxyd und geht keine Gährung ein. Bei der Oxydation mit Chromsäure oder Salpetersäure lieferte sie ausser Kohlensäure nur Ameisensäure, deren Bleisalz analysirt wurde. Diese Eigenschaften machten es wahrscheinlich, dass sie als Kohlehydratsäure anzusehen sei; Schmiedeberg giebt ihr die hypothetische Constitution $(CH.OH)^4 \begin{cases} CHO. \\ COOH. \end{cases}$

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, S. 422.

Baumann und Preusse¹⁾, gleichzeitig Jaffe²⁾, wiesen nach Brombenzolfütterung im Harne neben verschiedenen anderen Substanzen eine linksdrehende, Kupferoxyd reducirende Säure nach, welche sich schon beim einfachen Erhitzen in der Weise zersetzte, dass der linksdrehende und Kupferoxyd reducirende Bestandtheil verschwand; der zurückbleibende Theil ist die Bromphenylmercaptursäure $C^{11}H^{12}BrSNO^8$. Kossel³⁾ erhielt durch Spaltung des von ihm entdeckten Paarungsproductes des Phenetols, der Chinäthonsäure $C^{14}H^{18}O^9$, eine aromatische Verbindung und eine mit der Glycuronsäure wahrscheinlich identische oder nahe verwandte Säure, die nicht isolirt werden konnte.

Linksdrehende und Kupfer reducirende Substanzen hatte ferner v. Mering schon früher (1874) auch nach Darreichung von Chloroform⁴⁾, Morphinum⁵⁾ und Nitrobenzol⁶⁾ gefunden; und linksdrehende constatirte Külz nach Eingeben von Dichlorbenzol, Xylol, Cumol.⁷⁾ Die Darstellung aller dieser Verbindungen ist noch nicht versucht und ihre Beziehung zur Glycuronsäure deshalb noch hypothetisch.

Dass die Urochloralsäure, entsprechend der schon von Jaffe ausgesprochenen Ansicht, eine gepaarte Glycuronsäure sei, haben v. Mering⁸⁾ und später Külz⁹⁾ nachgewiesen. Der erstere hat nach neueren Analysen die Formel $C^8H^{11}Cl^8O^7$ (nach Külz wäre H^{12} zu setzen) angegeben; die Säure spaltet sich bei Behandlung mit 5procentiger Schwefelsäure in Trichloräthylalcohol und Glycuronsäure. In analoger Weise zerlegt sich die Urobutylchloralsäure, das Stoffwechselproduct des Butylchlorales, in Trichlorbutylalcohol und Glycuronsäure.

1) Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. III, S. 156. und Bd. V, S. 309.
— Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XII, S. 806.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XII, S. 1097.

3) Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 296.

4) Mitgetheilt von Zweifel, Berl. klin. Wochenschr., 1874, S. 246.
Neuerdings bestätigt von Zeller, Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 70.

5) L. cit.

6) Centralbl. f. d. medic. Wissensch., 1875, Nr. 55.

7) Ebendasselbst, 1881, 7. Mai.

8) Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 480.

9) L. cit.

Von ganz besonderem Interesse ist das Verhalten des Phenols, Benzols (und Brombenzols), Indols im Organismus; diese Körper bilden gleichzeitig gepaarte Schwefelsäuren und gepaarte Glycuronsäuren. Schon 1876 fand Baumann¹⁾ nach Darreichung grösserer Mengen von Phenol im Harn neben der Phenolschwefelsäure eine zweite Säure, die beim Erhitzen mit Salzsäure Phenol, aber keine Schwefelsäure lieferte. 1877 zeigte derselbe Autor,²⁾ dass auch das Indol neben Indoxylschwefelsäure eine nicht schwefelsäurehaltige Verbindung (Glycuronsäureverbindung?) eingehe. Baumann und Preusse³⁾ wiesen nach, dass das Benzol sich ganz ähnlich wie das Phenol verhalte, dass ferner das schwefelsäurefreie Paarungsproduct des Phenols die Polarisationssebene nach links drehe, und dass nach Brombenzolfütterung der Harn neben der erwähnten muthmasslichen Glycuronsäureverbindung «Oxydationsproducte des Benzols, ein- und zweiatomige Phenole, in Form von Aetherschwefelsäuren», enthalte. Endlich hat Schmiedeberg⁴⁾ die Frage völlig aufgeklärt: nach seinen Untersuchungen geht das Benzol unter normalen Verhältnissen zum grössten Theil in Phenolschwefelsäuren über; modificirt man aber die Nahrung des Versuchstieres in der Weise, dass das Benzol im Organismus möglichst wenig freie Schwefelsäure vorfindet, so liefert es neben einer geringen Quantität Phenolschwefelsäure ein Gemenge verschiedener Phenylglycuronsäuren, aus denen die Glycuronsäure abgetrennt und an ihren charakteristischen Eigenschaften erkannt werden konnte. Ebenso verhält sich das Phenol; die Untersuchungen von v. Mering⁵⁾ über die Schicksale des Kairins im Organismus machen es wahrscheinlich, dass auch diese Substanz neben der Kairinschwefelsäure Glycuronsäureverbindungen liefert. Wenn ich noch zufüge, dass nach Schmiedeberg auch das Terpentingöl in Glycuronsäureverbindungen

1) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XIII, S. 299.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. I, S. 68.

3) L. cit.

4) Archiv für experimentell. Pathologie, Bd. XIV, S. 306.

5) Zeitsch. f. klinische Medicin, Bd. VII, Suppl.-Heft, S. 149.

übergeht, so ist damit die Reihe der bisher bekannt gewordenen Körper dieser Art erschöpft.

Es tritt also die Glycuronsäure mit den verschiedenartigsten, dem Organismus einverleibten Stoffen in Verbindung und wird dann mit dem Harn ausgeschieden; es ist kaum zu bezweifeln, dass auch im normalen Stoffwechsel geringe Mengen dieser Säure gebildet werden und in den Harn übergehen. Ihre Eigenschaften machen ihre Entstehung aus dem Zucker äusserst wahrscheinlich. Im diabetischen Harn ist wiederholt eine stärkere Rechtsdrehung, als dem durch Titrirung bestimmten Zuckergehalt entsprach, beobachtet worden und möglicher Weise durch Anwesenheit von Glycuronsäure zu erklären; sollte sich diese Annahme bestätigen, so würde dadurch der angedeutete Zusammenhang zwischen Zucker und Glycuronsäure noch wahrscheinlicher.

Die Untersuchungen von Schmiedeberg, v. Mering u.A. haben gezeigt, dass die fragliche Säure schon beim Erhitzen ohne Zusatz irgend welcher Agentien sich ausserordentlich leicht zersetzt; es kann deshalb aus der Thatsache, dass bisher bei normalem Stoffwechsel weder in thierischen Secreten noch Excreten Glycuronsäure nachgewiesen worden ist, keineswegs auf völlige Abwesenheit derselben geschlossen werden.

Der normale menschliche Harn enthält Substanzen von zum Theil unbekannter Natur, welche Kupferoxyd reduciren; unter diesen müsste die Glycuronsäure, wenn sie überhaupt vorhanden ist, enthalten sein, hier muss sie gesucht werden. Bevor ich zu meinen eigenen, von diesem Gesichtspunkt aus angestellten Versuchen übergehe, muss erörtert werden, was bisher von diesen reducirenden Substanzen bekannt geworden ist, insbesondere die Frage, ob unter denselben Traubenzucker regelmässig vorhanden oder sogar als hauptsächlichster reducirender Bestandtheil des Harnes anzusehen sei.

II. Enthält der normale menschliche Harn Traubenzucker?

Diese Frage ist seit langer Zeit Gegenstand ausserordentlich zahlreicher Forschungen gewesen. Eine Reihe verschiedener Methoden ist ersonnen worden, um qualitativ oder

quantitativ den Zucker im Harn nachzuweisen. Die sonst gebräuchlichen Zuckerproben, die Heller'sche, Trommer'sche, Böttger'sche etc., ferner die Titrirung mit Fehling'scher oder Knapp'scher Lösung, müssen zu dem genannten Zweck als völlig unbrauchbar bezeichnet werden, weil die Fähigkeit, Kupfer-, Wismut-, Quecksilberoxyd zu reduciren, noch vielen anderen Substanzen zukommt, von denen einige erwiesener Maassen im Harn vorhanden sind (Harnsäure, Kreatinin). Von sonstigen Methoden sind zu nennen:

1. Gährungsprobe.
2. Nachweis durch Circumpolarisation.
3. Methode von Huizinga.
4. Versuche, den Traubenzucker rein darzustellen:
 - a) als Zuckerkali,
 - b) als Bleisaccharat.

Den unter 4. angedeuteten Weg hat zuerst Brücke eingeschlagen. Die erste Methode, die er angab, besteht darin, dass man frischem Harn so viel Alcohol zusetzt, dass das Gemisch 80% absoluten Alcohol enthält, alsdann zu der vom Niederschlag abfiltrirten Flüssigkeit alcoholische Kalilauge tropfenweise, so lange als dadurch Trübung erzeugt wird, zufügt. Auf diese Weise gewann Brücke büschelförmige Krystalle, die er für Zuckerkali hielt. Kurze Zeit darauf zeigte Bence Jones, später J. Seegen, dass Zuckerkali in 80procentigem, ja selbst noch in 90procentigem Alcohol ziemlich löslich sei, dass es nur aus fast absolutem Alcohol als firnissartige Masse, nicht in Krystallform, ausfalle, und dass eine Darstellung von Zuckerkali aus dem Harn nach dem Brücke'schen Verfahren unausführbar sei.

Auch die später von Lehmann und Abeles vorgeschlagenen Modificationen der Methode haben ein besseres Resultat nicht erzielt, als dass man schmierige braune Massen bekam, die neben Zuckerkali — resp. neben der Substanz, die man dafür hielt — noch reichliche Mengen anderer Harnbestandtheile enthielten.

Ein reineres Ergebniss, als das damit bezeichnete, hat auch die zweite Brücke'sche Methode nicht erzielt; immer-

hin ist sie bis jetzt die einzige brauchbare, um die fragliche reducirende Substanz des Harnes wenigstens von einem grossen Theil der übrigen Bestandtheile abzutrennen und in einiger-massen concentrirter, für Gährungsproben und Circumpolarisationsbestimmungen verwendbarer Lösung zu erhalten. Sie ist zur Grundlage für fast sämtliche spätere Untersuchungen geworden. Das Verfahren, wie es von Brücke und den späteren Autoren angewendet wird, beruht im Wesentlichen in Folgendem: Grosse Mengen Harn werden mit neutralem Bleiacetat, basischem Bleiacetat, Ammoniak successive ausgefällt, der letzte oder auch die beiden letzten Niederschläge mit Oxalsäure, Schwefelwasserstoff oder Schwefelsäure zerlegt, das so erhaltene Filtrat neutralisirt (mit Calciumcarbonat) und eingeeengt. Brücke gewann auf diese Weise eine Lösung, in welcher er Zucker nachwies: 1. durch Reductionsproben, 2. durch Gährung. Diese Resultate hat dann Bence Jones bestätigt und hinzugefügt, dass 3. die Lösung die Polarisations-ebene nach rechts dreht. Tuchen, Iwanoff, Meissner und von Babo sind zu ähnlichen Ergebnissen gelangt.

Huizinga hat einen neuen Nachweis des Zuckers auf seine Eigenschaft, Molybdänsäure zu reduciren, basiren wollen (die Reduction erkennt man daran, dass die Flüssigkeit grün-blaue Farbe annimmt). Seine Versuche bieten indess gar keine Garantie dafür, dass der Harn, auch nach der vorgeschlagenen Ausfällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd, nicht noch andere Substanzen enthalte, die auf Molybdänsäure reducirend einwirken.

Gegen die Anwesenheit von Zucker hat dann zuerst Friedländer einen interessanten Beweis erbracht: er fand, dass durch starke Jodjodkaliumlösung der Zucker zersetzt, die reducirende Substanz des Harns dagegen nicht verändert wird (Harnsäure wird durch Jodjodkali auch zersetzt). Ferner kam Maly bei seinen Untersuchungen auf Zucker zu völlig negativen Resultaten. Auf Grund einer grossen Reihe eigener Forschungen und einer umfassenden Kritik aller früheren hat dann J. Seegen in überzeugender Weise dargethan, dass ein Beweis für das Vorhanden-

sein von Zucker im normalen Harn noch nicht geleistet sei, und dass die dazu benutzten Methoden nicht genügten. Seine Hauptargumente sind folgende:

1. Die Gährungsproben haben so minimale Mengen von Kohlensäure ergeben (die von Brücke und Bence Jones notirten Werthe würden einem Zuckergehalt von 0,001—0,002% im Harn entsprechen), dass sie sehr wohl aus anderen Quellen als aus Zucker stammen können. Denn nach den Untersuchungen von Pasteur und Liebig producirt die Hefe selbst durch einen Process von Selbstvergäherung Kohlensäure und Alcohol, und andererseits findet im Harn auch ohne Hefezusatz eine Kohlensäureentwicklung statt, vielleicht durch Zersetzung von Harnstoff. So bekam Seegen aus 100 c. c. Harn ohne Hefe in drei Tagen 22 Milligr. Kohlensäure. Schon Leconte hat behauptet, eine Flüssigkeit könne nicht mit Sicherheit als zuckerhaltig bezeichnet werden, wenn sie nicht bei der Gährung schon in den ersten zwei Stunden Kohlensäureblasen aufsteigen lasse.

2. Die Beobachtungen über Rechtsdrehung constatiren alle eine geringere Drehung als diejenige, welche einer 0,3procentigen Zuckerlösung entspricht. Seegen findet, dass die nach oben beschriebener Methode gewonnenen Lösungen auch nach bestmöglicher Entfärbung noch schwach gelblich und nicht genügend klar seien, um eine Drehung um 1 Theilstrich des Soleil-Ventzke'schen Apparates — 1 Theilstrich entspricht 0,35% Dextrose — mit Sicherheit erkennen zu lassen.

Külz hat dann 100 Liter Harn verarbeitet, ohne Zucker nachweisen zu können. Pavy hat im Wesentlichen nur wieder Brücke's Versuche wiederholt und ist zu denselben Resultaten gelangt. Eine sehr lebhaftc Anregung erfuhr die Discussion der Zuckerfrage 1879 durch die Arbeiten von Abeles. Sein Verfahren weicht trotz einiger Modificationen (unter Anderem Zerlegung des Ammoniakniederschlagcs mit Schwefelsäure, während vor ihm allgemein Schwefelwasserstoff oder Oxalsäure zu diesem Zweck verwendet war) in allen

Momenten, auf die es ankommt, kaum wesentlich von dem von Brücke u. a. eingeschlagenen ab. Aber die Resultate unterscheiden sich insofern von allen früheren, als Abeles bedeutend mehr Kohlensäure erhielt und eine Drehung beobachtete, welche die von Seegen angegebene Fehlergrenze entschieden überstieg, nämlich bis 0,7% Dextrose entsprechend.

Es muss aber hier hervorgehoben werden, dass auch diese letztere Beobachtung die Anwesenheit von Zucker durchaus nicht beweist, weil auch die Glycuronsäure rechts dreht. Dasjenige Moment, welches, so lange die Reindarstellung des Zuckers aus dem normalen Harn nicht geglückt ist, einzig als sicheres Kriterium bezeichnet werden kann und das als Postulat für den Zuckernachweis aufgestellt werden muss, ist eine Gährung, die schnell eintritt und hinreichend grosse Mengen von Kohlensäure liefert, so dass die oben angedeuteten Fehlerquellen vernachlässigt werden können. Um so mehr ist zu bedauern, dass Abeles uns von seinen Gährungsproben ein einziges Mal überhaupt nur die Ziffer der gewonnenen Kohlensäure (0,103 gr. aus 25 Litern Harn von 7 gesunden Menschen) mittheilt, aber nicht die mindeste Auskunft über den Verlauf der Gährung und die Details der Ausführung giebt. Der von ihm so betonte qualitative Nachweis des Gährungs-Alcohols ist deswegen völlig irrelevant, weil die Hefe selbst so viel Alcohol producirt, dass er im Destillat nachgewiesen werden kann.

Wenn immerhin das relativ beträchtliche Quantum Kohlensäure, das Abeles erhielt, es nicht unmöglich erscheinen liess, dass wenigstens bei dieser Einen Bestimmung Zucker in der That vorhanden war, so stehen dem Einen positiven Resultat so viel negative gegenüber, die mit kaum differenten Methoden von Seegen, Maly, Külz u. a. gewonnen waren, dass der Satz als sicher ausgesprochen werden darf:

Der normale menschliche Harn enthält in den weitaus meisten Fällen nicht nachweisbare Mengen von Zucker.

Ich möchte hier noch eines Versuches von Seegen gedenken, der von grosser Bedeutung ist: von 0,5 gr. Zucker, die er zu 1 Liter normalen Harns zusetzte, konnten $\frac{2}{3}$ in den Bleiessig-Ammoniakniederschlägen durch Gährung und Circumpolarisation nachgewiesen werden. In 8 Litern normalen Harns ergab dagegen genau dasselbe Verfahren ein völlig negatives Resultat. Seegen zieht daraus den kaum anfechtbaren Schluss, dass der normale Harn, wenn er überhaupt Zucker enthalte, nicht mehr als allerhöchstens 0,006 % enthalten könne.

Der normale Harn reducirt aber etwa 30 bis 40 mal so stark wie eine 0,006 % Zuckerlösung (s. die quantitativen Bestimmungen S. 18 dieser Arbeit). Sein Gehalt an Harnsäure kann nach Worm-Müller nicht den vierten Theil dieser Reductionsfähigkeit erklären; Harn, aus dem die Harnsäure durch Salzsäure ausgefällt ist, reducirt nur unerheblich schwächer als vor der Ausfällung. Das Kreatinin kommt noch viel weniger in Betracht. Es erscheint demgemäss die Folgerung als zwingend: dass der Harn ausser Harnsäure, Kreatinin und der eventuell vorhandenen, nicht nachweisbaren, jedenfalls minimalen Zuckermenge noch sonstige reducirende Substanzen enthalte.

Brücke und Abeles selbst notiren bei ihren Versuchen, den Zucker nachzuweisen, Erscheinungen, welche darauf hindeuten, dass sie es in Wirklichkeit mit anderen Substanzen zu thun hatten. Brücke fand, dass Traubenzucker, in reinem Wasser gelöst, durch Bleiessig gar nicht, in Harn gelöst, zum kleinern Theil durch Bleiessig, zum grössern erst durch Ammoniak gefällt wurde, während die reducirende Harnsubstanz, die er für Zucker hielt, zum grössern Theil in den Bleiessigniederschlag hineinging. Dasselbe lässt sich an harnsäurefreiem Harn nachweisen. Abeles beobachtete, dass die reducirende Substanz bei starkem Eindampfen spurlos verschwand, ebenso manchmal beim Behandeln des Bleiessig-Ammoniakniederschlages mit Schwefelwasserstoff. Als er in eine solche durch Schwefelwasserstoffbehandlung erhaltene Lösung, die deutlich rechts drehte, noch

mehr Bleiessig-Ammoniakniederschlag eintrug, war nach abermaligem Durchleiten von Schwefelwasserstoff die Rechtsdrehung nicht mehr vorhanden. Eine so leichte Zersetzbarkeit ist, wie Seegen hervorhebt, beim Traubenzucker niemals beobachtet worden.

Die in Abschnitt II. der historischen Uebersicht benutzte Literatur ist folgende:

E. Brücke, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. XXIX, S. 346, Bd. XXXIX, S. 10. — Wiener Medicinische Wochenschrift, 1858, Nr. 10--12.

Bence Jones, Chem. Soc. Quarterly Journ, Vol. XIV, p. 22.

Tuchen, Archiv für pathologische Anatomie, Bd. XXXVII, S. 267.

Iwanoff, Ueber die Glycosurie der Schwangeren, Dissert., Dorpat 1861.

Meissner und v. Babo. Zeitschrift für rationelle Medicin (3), Bd. II.

Huizinga, Pflüger's Archiv, 1870, 10 und 11. Heft.

Pavy, Guy's Hospit. Reports, Vol. XXI, p. 413.

Abeles, Centralblatt für die medicinische Wissenschaft, 1879, Nr. 3, Nr. 12, Nr. 22.

Friedländer, Archiv der Heilkunde, Bd. VI, S. 97.

R. Maly, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. LXIII, II. 9. März 1871.

J. Seegen, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. LXIV, II. 20. April 1871. — Diabetes mellitus, 2. Aufl., Berlin 1875, S. 196.

Derselbe, Wiener Medicinische Wochenschrift, 1878, Nr. 12, Nr. 13. — Centralblatt für die medicinische Wissenschaft, 1879, Nr. 8, Nr. 16.

Külz, Pflüger's Archiv, Bd. XIII, S. 296.

Worm-Müller, Pflüger's Archiv, Bd. XXVII, S. 22.

B. Eigene Untersuchungen.

I Quantitative Bestimmung der Reductionsfähigkeit des normalen Harnes.

Es existirt bisher noch keine brauchbare Methode, um die Menge Kupfersulfat, welche ein gemessenes Quantum Harn zu reduciren vermag, exact zu bestimmen.

Worm-Müller¹⁾ hat vorgeschlagen, das Cyanquecksilber zur Titrirung der reducirenden Substanzen des Harns zu verwenden; doch ist die Knapp'sche Lösung bedeutend

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. XXVII, S. 22.

weniger empfindlich als die Fehling'sche und giebt, wie Bestimmungen kleiner Zuckermengen in leicht diabetischem Harn zeigen, viel ungenauere Resultate. Worm-Müller selbst giebt an, dass Harnsäure und Kreatinin auf Quecksilberoxyd weniger leicht einwirken als auf Kupferoxyd. Die noch unbekannteren reducirenden Substanzen des Harns wirken aber auf reducirbare Körper noch weniger leicht ein als die Harnsäure; um so mehr erschien der Versuch geboten, das unzweifelhaft empfindlichste Reagens, das Kupfersulfat, in Form der Fehling'schen Lösung zu dem bezeichneten Zwecke verwendbar zu machen.

Wenn man zu 20 c. c. Fehling'scher Lösung,¹⁾ die mit 80 c. c. Wasser verdünnt sind, 10—20 c. c. normalen menschlichen Harns zusetzt, so nimmt die Mischung, welche vollkommen klar bleibt, eine dunkelblaugrüne Farbe an; erhitzt man jetzt auf 100°, so ändert unmittelbar nach dem Kochen die Flüssigkeit ihr Aussehen nicht oder wird höchstens etwas mehr grün. 3, 4, oft auch 10—12, in einzelnen Fällen erst 15 Minuten nach dem Kochen beginnt sie sich leicht zu trüben, wird dann schnell vollständig undurchsichtig und bekommt eine intensiv hellgrüngelbe, unter Umständen (bei starker Reduction) auch an's Gelbrothe streifende Farbe. Spärliche rothe Flocken fallen dabei nur ganz ausnahmsweise zu Boden (Fälle, wo der Harn eine Spur Zucker enthält?): unter 60 Harnen von gesunden Individuen habe ich diese Erscheinung nur Einmal gesehen. Die gelbgrüne Flüssigkeit passirt unverändert, und ohne etwas zurückzulassen, das Filter.

Anderweitig gemachten Angaben gegenüber hebe ich hervor, dass alle normalen Harnen fast ausnahmslos — mir ist unter 60 Fällen nur Eine Ausnahme vorgekommen — eine Reduction nach dem beschriebenen Typus zeigen. Nur ist dazu häufig nöthig, dass man die Mischung $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Minute

¹⁾ Die bei den Versuchen benutzte Lösung war nach der ursprünglichen Fehling'schen Vorschrift zusammengesetzt: Cuprum sulfuricum 34,65. Tartarus natronatus 173,0 aufgelöst in 600 gr. Natronlauge von 1,12 specifischem Gewicht, das Ganze auf 1 Liter verdünnt. 20 c. c. dieser Lösung werden von 20 c. c. 0,5procent. Traubenzuckerlösung genau reducirt.

im Kochen erhält, dann 5—10 Minuten stehen lässt, eventuell, wenn die Reduction nicht sichtbar wird, nochmals auf 100° erhitzt und wieder erkalten lässt. Ich kann mich auch dem Rathe Neubauer's, Fehling'sche Lösung nicht bis auf den Siedepunkt zu erwärmen, weil sonst leicht Kupferoxyd ausfalle, nicht anschliessen: ich habe bei vorsichtiger Erwärmung mit kleiner Flamme und unter Vorsichtsmassregeln, welche das Ueberhitzen und Stossen verhüteten, niemals eine Ausscheidung von Kupferoxyd beobachtet.

Der erwähnte einzige Fall, wo ein gar nicht reducirender Harn gefunden wurde, betraf eigenthümlicher Weise einen Diabetes leichtesten Grades, von welchem nur bei reichlicher Kohlehydratzufuhr 0,5—0,7% Zucker, bei vorwiegender Fleisch- und Fett-Diät ein völlig zuckerfreier Harn von 1015—1020 specifischem Gewicht secernirt wurde: dieser Harn liess Fehling'sche Lösung bei allen Modificationen des Versuchs unverändert¹⁾.

Da also nach obiger Beschreibung das durch Reduction gebildete Kupferoxydul vom Harn in Suspension, zum Theil wohl auch in Lösung gehalten wird, ist es unmöglich, durch weiteres Zusetzen von Harn in der Weise, wie mit Zuckerlösungen verfahren wird, zu Ende zu titiren. Es gelingt indessen, bei passender Abmessung der Quantitäten von Harn und Fehling'scher Lösung, in allen Fällen durch Zufügen einer geeigneten Menge von Zuckerlösung das Kupferoxydul zur Ausscheidung zu bringen. Wenn man nämlich zu einer solchen

¹⁾ Es wurde dabei noch eine zweite Eigenthümlichkeit beobachtet: Wenn man zu normalem Harn mehr Kupfersulfat zusetzt, als er bei Zufügen von Natronlauge zu lösen vermag, so fällt das Ueberschüssige als Kupferoxydhydrat in hellblauen Flocken aus; beim Kochen werden diese blauen Flocken, wenn die Menge des Kupfers eine gewisse — für verschiedene Harne verschiedene — Grenze nicht überschreitet, nicht verändert, nicht in schwarzes Kupferoxyd übergeführt. Der erwähnte zuckerfreie Harn eines Diabetikers besass diese Fähigkeit, Kupferoxydhydrat vor dem Uebergang in Kupferoxyd zu bewahren, fast gar nicht, sondern liess beim Kochen selbst geringe Mengen zugefügten Kupfersulfats in Form schwarzer Flocken fallen. Er hielt ausserdem auch sehr wenig Kupfer in Lösung (in der Kälte).

grüngelben Mischung, wie sie oben geschildert ist, eine 0,5procentige Traubenzuckerlösung in der Weise zufließen lässt, dass nach jedesmaligem Zusatz von je 1 c. c. Zuckerlösung zum Kochen erhitzt und filtrirt wird, so erhält man Filtrate, welche um so klarer werden, je mehr man sich dem Punkte, wo alles Kupferoxyd reducirt ist, nähert. Filtrirt man jedesmal nur einen ganz kleinen Theil der Gesamttlüssigkeit ab und stellt sich eine Reihe derartiger Filtrate neben einander, so sind die ersten noch trüb grüngelb, dann werden sie vollkommen klar und grünblau, zuletzt schwach grünblau, endlich hellgelb. Der Eintritt dieser Endreaction lässt sich bei einiger Uebung scharf erkennen. Verfährt man in der Weise, dass man die Filtrate, so lange sie noch grünblau sind, immer wieder zu der Gesamttlüssigkeit zufügt, so kann man genau so lange titriren, bis alles Kupferoxyd reducirt ist. Die Differenz aus dem Quantum a der Fehling'schen Lösung und der Menge b der verbrauchten 0,5procentigen Zuckerlösung ergiebt alsdann die Reductionsgrösse des Harnes: die x c. c. Harn (10 bis 20) reduciren (a—b) Fehling'sche Lösung oder, mit anderen Worten, so stark wie (a—b) c. c. einer 0,5procentigen Zuckerlösung.

Die gelbe Endflüssigkeit giebt mit Ferrocyankalium keinen Niederschlag, enthält also kein Kupferoxydhydrat mehr. Gelöstes Kupferoxydul war bei der weitaus grössten Anzahl der Versuche nicht, manchmal in Spuren nachzuweisen, was jedoch der Schärfe der Titrirung kaum Eintrag thut. Wenn in einzelnen Fällen bei sehr stark gefärbtem Harn die Farbenunterschiede nicht mit genügender Deutlichkeit hervortreten, so kann man das Verfahren dahin modificiren, dass man von den letzten noch schwach blaugrünen Filtraten je 1—2 c. c. im Reagensglas mit einigen Tropfen Zuckerlösung erhitzt: so lange als dabei noch gelbrothe Trübung eintritt, ist noch Kupferoxyd in Lösung und muss weiter titirt werden. Dabei erleidet die Bestimmung durch das der Gesamttlüssigkeit entzogene Kupfersulfat einen ganz unbedeutenden Fehler.

Die Titrirung ist hinreichend scharf, um selbst zwischen aufeinander folgenden Bruchtheilen ($\frac{1}{5}$) eines c. c. Zuckerlösung die Endreaction erkennen zu lassen; indessen ist bei

den meisten der im Folgenden beschriebenen Bestimmungen auf kleinere Menge als 0,5 c. c. Zuckerlösung nicht Rücksicht genommen.

Aus einer grossen Anzahl von Titirungen will ich folgende näher schildern:

1. 20 c. c. Fehling'sche Lösung, 80 Wasser, 20 c. c. normalen menschlichen Harns zusammen zum Kochen erhitzt, dann so lange stehen gelassen, bis die Reduction sichtbar wurde. Flüssigkeit grüngelb, lässt auf dem Filter Nichts zurück.

Darauf 4 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat trüb, gelbgrün.

Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat grünblau, fast klar.

Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat grünblau, völlig klar.

Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat schwach, aber noch deutlich grünblau.

Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: **Filtrat hellgelb.**

Verbraucht 12 c. c. Zuckerlösung, Endreaction eingetreten zwischen 10 und 12 c. c. Zuckerlösung: durch den Harn reducirt 8 (-10) c. c. Fehling'sche Lösung.

2. Der Versuch 1 in genau gleicher Weise wiederholt, aber: Gleich 10 c. c. Zuckerlösung zugefügt: Filtrat grünblau.

Noch 0,5 » » » schwach grünblau.

Noch 0,5 » » » noch ganz schwach grünblau.

Noch 0,4 » » » **Filtrat hellgelb.**

Endreaction zwischen 11,0 und 11,4 Zuckerlösung, durch den Harn reducirt: 8,6 (-9,0) Fehling'sche Lösung.

Versuch 1 und 2 wurden je 3 Mal mit übereinstimmendem Resultat wiederholt.

3. Von dem in 1 und 2 verwendeten Harn nur 10 c. c. auf 20 Fehling:

15 c. c. Zuckerlösung zugesetzt: Filtrat grünblau.

Noch 0,5 » » » ganz schwach grünblau.

Noch 0,2 » » » **Filtrat hellgelb.**

Endreaction zwischen 15,5 und 15,7; durch 10 c. c. Harn werden 4,3 (-4,5) Fehling'sche Lösung, also genau halb soviel wie durch 20 Harn reducirt.

Diese Versuche, insbesondere die noch durch zahlreiche weitere Bestimmungen festgestellte Thatsache, dass bei verschiedenen Quantitäten desselben Harnes die gefundenen Reductionsgrößen sich proportional zu den Harnmengen verhalten, beweisen, dass die Titrirung constante Resultate liefert.

Die Ausführung der Methode wird indessen unmöglich, wenn die Quantität des verwendeten Harnes eine gewisse Grenze überschreitet. Man erhält dann beim Zusatz von Zuckerlösung niemals filtrirbare Flüssigkeiten. Als Maximum der Menge, bei der die Titrirung noch ausführbar ist, wurde beim menschlichen Harn im Durchschnitt — auf 20 c. c. Fehling'sche Lösung bezogen — 25 c. c., beim Hundeharn 10—12 c. c. gefunden. Es entspricht dieses Maximum ungefähr derjenigen Harnmenge, die im Stande ist, die Hälfte der gegebenen Fehling'schen Lösung zu reduciren.

Die Berechnungen ergaben, dass der normale menschliche Harn so stark wie eine 0,15—0,25procentige Traubenzuckerlösung, der Hundeharn 2—3 mal stärker reducirt. Relativ bedeutende Schwankungen wurden beim gesunden Menschen auch bei constanter Menge und specifischem Gewicht des täglich gelassenen Harns beobachtet. Von irgend welchen Aenderungen der Lebensweise, insbesondere von vermehrter oder auch völlig aufgehobener Zufuhr von Alcohol und Kohlehydraten, konnte ein Einfluss auf diese Verhältnisse nicht constatirt werden. Der Harn eines an Oesophaguscarcinom leidenden Mannes reducirt nach fünftägiger völliger Inanition so stark wie der eines Gesunden.

Bei fieberhaften Krankheiten verschiedener Art wurde eine Vermehrung der Reductionsfähigkeit des Harns um 10—20% gefunden; die Bestimmungen wurden hier in der Weise ausgeführt, dass der Harn bis zum durchschnittlichen specifischen Gewicht des normalen verdünnt und dann titirt wurde.

II. Reductionsfähigkeit des Harnes nach Behandlung mit Schwefelsäure.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: je 50 c. c. Harn wurden nach Zusatz von 5 c. c. 25procentiger Schwefelsäure 20 Minuten lang gekocht, mit Natriumcarbonat

neutralisirt, auf das ursprüngliche Volumen gebracht, alsdann titirt und das Resultat mit dem für den unveränderten Harn gefundenen Reductionswerth verglichen.

	Harn.	Fehling'sche Lösung.	Endreaction bei Zuckerslösung.	Reducirt von der Fehling'schen Lösung.		Bemerkungen
				c. c.	c. c.	
1. Hund Nr. I.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	15	10,5	4,5	4,5	} Keine Zunahme.
		15	10,5	4,5	4,5	
2. Hund Nr. II.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	15,0	5,0	5,0	} Keine Zunahme.
		20	15,0	5,0	5,0	
3. Hund Nr. III.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	15,5	4,5	4,5	} Zunahme.
		20	14,5	5,5	5,5	
4. Hund Nr. III nach 3 Hungertagen	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	16,0	4,0	4,0	} Zunahme.
		20	15,0	5,0	5,0	
5. Mensch Nr. I.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	14,5	5,5	5,5	} Keine Zunahme.
		20	14,5	5,5	5,5	
6. Mensch Nr. II.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	15,0	5,0	5,0	} Keine Zunahme.
		20	15,0	5,0	5,0	
7. Mensch Nr. III.	} unveränderter Harn Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	13,5	6,5	6,5	} Zunahme.
		20	12,0	8,0	8,0	

Eine grössere Anzahl von an menschlichen Harnen ausgeführten Bestimmungen ergab dasselbe Resultat wie die citirten: nämlich dass eine Zunahme der Reductionsfähigkeit um 10—20 % in etwa $\frac{1}{3}$ der Fälle constatirt, in $\frac{2}{3}$ vermisst wurde.

III. Verhalten der reducirenden Substanz

1. beim Eindampfen des Harns; 2. bei der Extraction mit Alcohol und Aether; 3. beim Fällen mit Baryhydrat, Blei, Phosphorwolframsäure;
4. bei der Dialyse.

1. 2 Liter Harn wurden, mit Essigsäure schwach angesäuert, erst über freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad bei möglichst hoher Temperatur, auf 200 c. c. eingengt und wieder bis zum ursprünglichen Volumen verdünnt. Die Reductionsfähigkeit betrug jetzt kaum $\frac{1}{6}$ der vorher am unveränderten Harn festgestellten.

2 Liter desselben Harnes wurden (ebenfalls angesäuert) in 3 sehr flachen, grossen Schalen vertheilt, auf Wasserbädern bei einer Temperatur von 60° auf 200 c. c. eingengt. 2 c. c. der so erhaltenen Flüssigkeit, mit 18 Wasser verdünnt, reducirten 5 Fehling'sche Lösung, während 20 ccm. des ursprünglichen Harnes 6 Fehling'sche Lösung reducirt hatten. Es wurden also durch das Eindampfen bei hoher Temperatur $\frac{5}{6}$, bei 60° $\frac{1}{6}$ der reducirenden Substanzen zerstört oder in der Weise verändert, dass sie ihre reducirende Eigenschaft verloren. Weitere Versuche ergaben, dass selbst beim Einengen zum Syrup die Hälfte bis $\frac{2}{3}$ der reducirenden Substanzen erhalten blieb, wenn die Temperatur sorgfältig auf 60° erhalten wurde.

2. 1 Liter Harn wurde bei 60° zum Syrup eingedampft, dann mit $\frac{1}{2}$ Liter 98 procentigen Alcohol 24 Stunden lang extrahirt. Das Volumen der alsdann abfiltrirten Flüssigkeit betrug 527 c. c. Der Rückstand wurde mit 20 c. c. Wasser verrieben, dann $\frac{1}{2}$ Liter Alcohol unter stetem Umrühren portionenweise langsam zugesetzt. Nach 24 Stunden wurde filtrirt, das Filtrat mit dem ersten vereinigt. Die auf diese Weise gewonnene Lösung enthielt etwa 93 % absol. Alcohol. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und titirt: noch $\frac{1}{3}$ der reducirenden

Substanzen, die in dem zum Syrup eingeengten Harn vorhanden gewesen waren, konnte nachgewiesen werden.

Der Versuch wurde mit etwas verdünnterem Alcohol wiederholt, so dass ein 85% absoluten Alcohols enthaltendes Extract resultirte: die ungelösten Rückstände zeigten jetzt nur noch spurenweise Reduction.

Die alcoholischen Extracte wurden zum Syrup eingedampft und in Wasser gelöst. Die so erhaltenen Lösungen reducirten sehr stark, doch konnte die Quantität der reducirenden Substanzen durch Titrirung nicht bestimmt werden, denn die Reduction verlief jetzt nach völlig anderem Typus als beim ursprünglichen Harn. Erhitzt man nämlich Fehling'sche Lösung mit einer geeigneten Menge der beschriebenen Lösung, so nimmt die Mischung schon bald nach dem Kochen eine tiefrothe Farbe an und zeigt, auch nach wiederholtem Aufkochen und Erkaltenlassen, keine Spur von Trübung oder Ausfällung. Es gelingt dann auch nicht, durch Zusatz von Zuckerlösung eine Ausscheidung von Kupferoxydul oder überhaupt eine sichtbare weitere Veränderung zu erzielen. Durch Ferricyankalium konnte nachgewiesen werden, dass eine solche tiefrothe Flüssigkeit reichlich Kupferoxydul gelöst enthielt. Zu bemerken ist noch, dass in einzelnen Fällen eine ganz leichte Trübung beobachtet wurde; wenn man dann filtrirte, bekam man ein völlig klares tiefrothes Filtrat, während auf dem Filter nur eine minimale Menge eines grauröthlichen flockigen Niederschlages zurückblieb.

Durch Ausschütteln mit Aether konnte aus den Verdampfungsrückständen der alcoholischen Extracte die reducirende Substanz nicht ausgezogen werden.

3. Fällungen mit Baryhydrat und mit Blei wurden sowohl im unveränderten oder nur eingedampften Harn, als in den alcoholischen Extracten vorgenommen. Aus dem Harn selbst konnte mit Baryhydrat nur ein kleiner Theil der reducirenden Substanz¹⁾ gefällt werden. Schüttelt man aber ein

¹⁾ Wenn ich von hier an des bequemerem Ausdrucks halber von Einer reducirenden Substanz im Singular spreche, so soll damit die Möglichkeit, dass es sich um mehrere derartige Körper handeln könnte, nicht in Abrede gestellt sein.

in beschriebener Weise gewonnenes Alcoholextract mit Baryt durch und zerlegt den Niederschlag mit Schwefelsäure, so erhält man eine ziemlich stark reducirende Lösung; eine quantitative Bestimmung wurde hier nicht ausgeführt.

Die Fällung mit Bleizucker, Bleiessig und Ammoniak, deren Resultate im Allgemeinen bekannt genug sind, habe ich zu dem speciellen Zwecke wiederholt, quantitativ festzustellen, wie viel von der reducirenden Substanz in den einzelnen Niederschlägen enthalten sei. Es wurden dabei nur relativ kleine Quantitäten Harn, je 2—3 Liter, verwendet, diese zuerst auf etwa 300 c. c. eingeengt, die Reductionsgrösse bestimmt und dann die Fällungen ausgeführt. Bei drei Versuchen wurde die Harnsäure vorher mit Salzsäure entfernt.

Ich bemerke hier gleich, dass die aus den Niederschlägen mit Schwefelwasserstoff oder Schwefelsäure erhaltenen Lösungen meistens nach demselben Typus, wie der normale Harn, reducirten und also die Titrirung möglich war. Eine Reduction ähnlich der bei den Alcoholextracten beschriebenen wurde 2 mal beim Bleiessigniederschlag, mehrmals beim Ammoniakniederschlag beobachtet. Die Bestimmungen lieferten bei den einzelnen Versuchen etwas abweichende Resultate; ich gebe hier die durchschnittlichen Werthe wieder. Von der reducirenden Substanz wurde gefunden:

1. Nach Ausfällung mit Bleizucker:		im Niederschlag (I) 15 ⁰ / ₀ ,	im Filtrat (a) 60 ⁰ / ₀ .
2. Nach Ausfällung des Filtr. a mit Bleiessig:	»	» (II) 20 ⁰ / ₀ ,	» (b) 15 ⁰ / ₀ .
3. Nach Ausfäll. d. Filtrat. b m. Ammoniak.	»	» (III) 10 ⁰ / ₀ ,	» (c) nur noch Spuren.
Total in allen Niederschlägen		45 ⁰ / ₀ .	
Verschwunden		55 ⁰ / ₀ .	

Der Niederschlag II zeigte bei den Versuchen, wo die Harnsäure nicht vorher entfernt war, etwas stärkere Reduction.

Die Eigenthümlichkeit der reducirenden Substanz des Harnes, Fehling'sche Lösung in eine tiefrothe, Kupferoxydul reichlich gelöst enthaltende, Flüssigkeit zu verwandeln, trat

nach den gemachten Angaben um so schärfer hervor, je mehr sie von den übrigen Harnbestandtheilen abgetrennt wurde. Es legt das die Vermuthung nahe, dass es sich um einen Körper handle, welcher die Fähigkeiten, Kupferoxyd zu reduciren, und Kupferoxydul in Lösung zu halten, in sich vereinigt. Sollte es sich dennoch herausstellen, dass im Harn einerseits Kupferoxyd reducirende und andererseits Kupferoxydul lösende Substanzen anzunehmen sind, so spielt jedenfalls unter den letzteren das Kreatinin, trotzdem es Kupferoxydul sicher zu lösen vermag, nicht eine so hervorragende Rolle, wie Worm-Müller¹⁾ annimmt. Zum Beweis folgender Versuch: $\frac{1}{2}$ Liter Harn, mit Schwefelsäure stark angesäuert, wurde mit Phosphorwolframsäure genau ausgefällt (nach den Angaben von Hofmeister²⁾ wird dabei das Kreatinin und Xanthin völlig ausgeschieden), dann filtrirt, mit Baryumcarbonat umgeschüttelt, mit Barythydrat bis zur alcalischen Reaction versetzt, alsdann ein Kohlensäurestrom bis zur Ausfällung des überschüssigen Baryts durchgeleitet und wieder filtrirt. Das eingeeengte Filtrat reducirte schwächer als der ursprüngliche Harn, aber immer noch ziemlich stark und zwar exquisit in der Weise wie das Alcholextract.

4. Versuche mit dem Dialysator ergaben, dass aus dem auf $\frac{1}{4}$ seines Volumens eingedampften Harn ($\frac{1}{2}$ Liter) die reducirende Substanz in 48 Stunden durch Diffusion mit Wasser vollständig entfernt werden konnte. Dass dabei keine Zersetzung derselben stattgefunden hatte, bewies die quantitative Bestimmung der im Diffusat befindlichen reducirenden Substanz. Die Reduction verlief hier genau wie beim unveränderten Harn.

IV.

Ich gehe zu Versuchen über, deren Zusammenhang mit den vorstehenden später erörtert werden soll; sie thun dar, dass man durch Behandlung des zum Syrup eingedampften Harns mit oxydirenden Körpern eine

¹⁾ L. cit.

²⁾ Zeitsch. für physiol. Chemie, Bd. V, S. 67.

flüchtige Substanz erhält, welche die Reactionen des Acetons giebt. Zu diesem Nachweis wurden benutzt: die Lieben'sche, Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction.

Zunächst muss hier etwas näher auf diese Reactionen eingegangen werden. Die Lieben'sche Reaction ist so vielen organischen Substanzen eigenthümlich, dass sie für den Nachweis von Aceton nur einen bedingten Werth hat.

Von grösserer Bedeutung sind in dieser Beziehung die Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction. Die Eigenschaft, Nitroprussidnatriumlösung bei Zusatz von Kali- oder Natronlauge rubinroth zu färben, besitzen ausser Aceton noch Aldehyd und Acetessigäther; ferner Kreatinin, welches aber nicht mit den Wasserdämpfen destillirbar ist und deshalb bei den zu beschreibenden Versuchen nicht in Frage kommt, und Phenol, Paracresol und ähnliche Substanzen, auf die ich später noch zurückkommen werde.

Aceton, Aldehyd und Acetessigäther verhalten sich gegen die genannten Reagentien so verschieden, dass sie mit ihrer Hülfe sicher von einander zu unterscheiden sind.

Aceton in sehr verdünnter Lösung giebt mit Nitroprussidnatrium und Aetzalcalien eine gelbrothe, oft auch an's Braunrothe streifende, in stärkerer Lösung eine intensiv rubinrothe Farbe, die bei Zusatz von Essigsäure in dem Moment, wo die Reaction sauer wird, in violett oder rosaviolett umschlägt. Die durch Aldehyd hervorgerufene Farbe ist carminroth und verändert ihre Qualität beim Zufügen von Essigsäure nicht. Diese durch Essigsäure bewirkte plötzliche Umwandlung der Farbe, die auch bei Acetessigäther nicht zu beobachten ist, charakterisirt das Aceton in sehr scharfer Weise.

Noch charakteristischer, aber weniger empfindlich, ist die von Le Nobel¹⁾ angegebene Reaction mit Nitroprussidnatrium, Ammoniak und 1 Tropfen Essigsäure. Eine acetonhaltige Flüssigkeit nimmt bei Zusatz dieser Reagentien eine ganz allmählich eintretende rosaviolette Farbe an, die das Maximum der Intensität nach 8—10 Minuten erreicht und

¹⁾ Archiv für experiment. Pathologie, Bd. XVIII.

dann wieder verblasst. Le Nobel giebt an, dass eine ähnliche Reaction durch Aldehyd gar nicht hervorgerufen werde; zahlreiche von mir gemachte Versuche haben dasselbe sowohl für Aldehyd als eine Anzahl aldehydähnlicher Körper ergeben: sie geben mit Nitroprussidnatrium, Ammoniak und 1 Tropfen Essigsäure keine Farbenreaction. Acetessigäther verhält sich gegen Nitroprussidnatrium und Ammoniak genau so wie gegen Nitroprussidnatrium und Natronlauge; es ist demnach die Nobel'sche Reaction, so viel bekannt, nur dem Aceton eigenthümlich (ausserdem dem Paracresol, s. später) und deshalb für den Nachweis dieses Körpers ausserordentlich geeignet.

Ich beschreibe nun meine Versuche über Oxydation des Harnsyrops. $\frac{1}{2}$ Liter normalen menschlichen Harns wurde bei 60° zum Syrup eingeengt, dann nach Zusatz von Kaliumbichromat und Schwefelsäure ¹⁾ zum Sieden erhitzt und ungefähr $\frac{1}{6}$ der Flüssigkeit abdestillirt. Das Destillat besass einen eigenthümlichen aromatischen, nicht deutlich an Aceton erinnernden Geruch; es gab:

1. Lieben'sche Probe: sehr intensiv.
2. Legal'sche: deutlich, meist ziemlich intensiv, stets mit dem charakteristischen Umschlag in's Rosaviolette.
3. Le Nobel'sche: in etwa $\frac{1}{3}$ der Fälle — die Harns von 20 gesunden Menschen wurden in obiger Weise behandelt — nicht sicher erkennbar, in etwa $\frac{2}{3}$ schwach, aber in typischer Weise.
4. Reynold-Gunning'sche (Auflösung von Quecksilberoxyd in alkalischer Lösung): nie.

Der Versuch wurde wiederholt: 6 mal mit Harn von Individuen, die 5 Tage lang keinen Zucker und keinen Alcohol genossen hatten; 2 mal mit Harn von einem Magenkranken, der reine Fleischdiät bekam; 5 mal mit Harn, der 3 Tage

¹⁾ Die bei diesen und den folgenden Versuchen benutzte Mischung enthielt 5 Theile concentrirter Schwefelsäure auf 7 Theile Kaliumbichromat.

lang mit Hefe behandelt und dann erst eingedampft war: das Resultat blieb immer dasselbe.

Um Phenol, Paracresol etc., die nach v. Jaksch¹⁾ die Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction auch geben, sicher ausschliessen zu können, habe ich wiederholt den Harn unter Zusatz einer geringen Menge Schwefelsäure eingedampft, dann zu dem Syrup noch mehr Schwefelsäure zugesetzt und abdestillirt: in dem Destillat war keine Spur der obigen Reactionen nachzuweisen, dagegen deutliche Reactionen, wenn man jetzt die der Schwefelsäure aequivalente Menge von Kaliumbichromat zusetzte und wieder destillirte. Dieser Versuch beweist, dass überhaupt kein präformirter Harnbestandtheil die Ursache der betreffenden Reactionen sein könne.

Es existirt demnach im normalen menschlichen Harn eine Substanz, die bei der Oxydation mit Chromsäure einen flüchtigen Körper liefert, welcher die Lieben'sche Reaction, ferner die Legal'sche und Le Nobel'sche in der für Aceton charakteristischen Weise giebt. Ich möchte die Behauptung als wahrscheinlich aufstellen, dass dieser Körper in der That Aceton sei. Da er in nur geringer Menge auftritt, ist bis jetzt eine Siedepunktsbestimmung nicht gelungen; fernere Versuche sollen zu diesem Zweck mit grossen Harnquantitäten noch ausgeführt werden. Auffällig ist immerhin das Fehlen der Reynold-Gunning'schen Reaction, die nach v. Jaksch und Le Nobel sehr empfindlich ist.

Bei den im Abschnitt I. beschriebenen Versuchen, bei der Alcoholextraction, Dialyse, Fällung mit Blei, Baryhydrat, Phosphorwolframsäure habe ich neben dem Verhalten der reducirenden Substanz stets auch dasjenige des Acetonreactionen liefernden Körpers geprüft. Es ergab sich, dass überall da, wo starke Reduction gefunden wurde, bei der Oxydation deutliche, da, wo die Reduction schwach war oder fehlte, undeutliche oder keine Acetonreactionen constatirt werden konnten.

1) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. VIII, S. 115.

Eine Identität der reducirenden Substanz und der Acetonreactionen liefernden ist demnach als nicht unwahrscheinlich zu bezeichnen.

Dass auch die Glycuronsäure bei der Oxydation Aceton producirt, beweist Folgendes: 1. 2,0 urochloralsaures Kalium gaben bei der Oxydation mit Chromsäure ein deutlich nach Aceton riechendes und intensive Acetonreactionen zeigendes Destillat. Dass die Reactionen es ermöglichen, Verwechslung mit etwa aus dem Trichloräthylalcohol entstehendem Aldehyd auszuschliessen, ist oben auseinandergesetzt. 2. Harn von einem Menschen, der 3 gr. Campher in 12 Stunden zu sich genommen hatte, wurde eingedampft und dann mit Chromsäure behandelt: das Destillat gab weit intensivere Acetonreactionen als ein nach genau gleichem Verfahren aus einem gleichen Volumen normalen Harnes (von demselben Individuum) gewonnenes. 3. Das Ergebniss der Oxydation des glycuronsauren Baryt's, s. S. 31 dieser Arbeit.

Wenn ich nun die Resultate der mitgetheilten Untersuchungen zusammenfasse, so kann von der reducirenden Substanz des normalen Harnes Folgendes zum Theil als sicher, zum Theil als wahrscheinlich ausgesagt werden:

1. Sie wird durch Eindampfen bei hoher Temperatur (90—100°) zum grossen Theil, bei niedriger Temperatur (60°) nur zu einem kleinen Theil zerstört.

2. Sie ist in Alcohol löslich, in Aether unlöslich.

3. Sie wird durch Barythydrat nur zu einem kleinen Theil gefällt; ferner ist sie durch Bleizucker, und noch etwas mehr durch Bleiessig, theilweise fällbar; mehr als die Hälfte wird bei der Bleifällung oder bei der weiteren Behandlung der Niederschläge zerstört.

4. Sie vereinigt die Fähigkeit, Kupferoxyd zu reduciren; mit der, Kupferoxydul zu lösen.

5. Sie ist dialysirbar.

6. Sie liefert bei der Oxydation Aceton.

Diese sämtlichen Eigenthümlichkeiten der reducirenden Substanz, mit alleiniger scheinbarer Ausnahme der vierten,

lassen sich mit der Annahme, dass sie eine Glycuronsäureverbindung sei, gut vereinigen und machen sie bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich. Wenn wir uns nach weiteren Beweismomenten umsehen, so ist noch zu erwähnen:

1. Die reducirende Substanz des Harns wirkt auf Kupferoxydhydrat bedeutend langsamer ein als Zucker. Ebenso verhalten sich die Glycuronsäureverbindungen. Urochloralsäures Kalium z. B. muss man mit Kupferoxydhydrat in alcalischer Lösung $\frac{3}{4}$ —1 Minute lang kochen und dann noch etwas abkühlen lassen, bis völlige Reduction eingetreten ist. (Die freie Glycuronsäure dagegen reducirt sehr rasch.)

2. Die Glycuronsäureverbindungen drehen die Polarisationssebene nach links, die freie Säure nach rechts. Linksdrehung haben an einer grossen Zahl normaler Harnes Haas¹⁾ und neuerdings E. Külz²⁾ nachgewiesen. Rechtsdrehung haben Bence Jones, Abeles u. a. an den aus Bleiessig-Ammoniakniederschlägen des Harnes gewonnenen Lösungen beobachtet. Dieser scheinbare Widerspruch liesse sich vorzüglich mit der Annahme vereinbaren, dass der Harn eine linksdrehende Glycuronsäureverbindung enthalte, aus der dann bei der Bleifällung und den damit verbundenen Manipulationen die rechtsdrehende Glycuronsäure frei werde. Warum die erwähnte Rechtsdrehung nicht auf Zucker zu beziehen sei, habe ich oben (S. 9 ff.) auseinandergesetzt³⁾.

Auch die in 4. angegebene Fähigkeit der reducirenden Substanz widerspricht der Möglichkeit, dass sie eine Glycuronsäureverbindung sei, nicht direct. Dieses Vermögen, Kupfer-

1) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaft, 1876, S. 149.

2) Zeitschrift für Biologie, 1884, S. 165.

3) Es darf nicht unerwähnt bleiben, dass auch Rechtsdrehung des normalen Harnes angegeben worden ist: Bornträger, Archiv für Pharmacie, Bd. XVII, S. 118. — Alle die angeführten Beobachtungen über Drehung der Ebene des polarisirten Lichtes nach links oder nach rechts können freilich nur zum Theil verwendet werden, weil einzelne davon unterhalb der von Seegen angegebenen Fehlergrenze bleiben; doch lassen die neueren Circumpolarisationsapparate eine viel genauere Bestimmung zu, als die von Soleil-Ventzke.

oxydul in Lösung zu halten, kommt, soviel bekannt ist, nur stickstoffhaltigen Körpern, z. B. dem Kreatinin, und überhaupt Amidverbindungen zu; dass aber die Glycuronsäure auch stickstoffhaltige Verbindungen eingeht und in Form solcher mit dem Organismus einverleibten Stoffen sich paart, beweisen die von Schmiedeberg nachgewiesene Uramidocamphoglycuronsäure und Jaffe's Harnstoffverbindung der Uro-nitrotoluolsäure. Eine Amido- oder Harnstoffverbindung der Glycuronsäure dürften wir demgemäss vielleicht auch in der reducirenden Substanz des normalen Harnes vermuthen.

Weiterhin sind dann noch zwei Momente von Bedeutung für die angedeuteten Hypothesen. Nämlich a) das Vorkommen von Aceton (und vielleicht auch Glycuronsäure) im diabätischen Harn; b) die physiologische und febrile Acetonurie. Dass der normale Harn bei der Destillation einen Jodoformreaction gebenden Körper liefere, hat schon Lieben¹⁾ entdeckt. v. Jaksch²⁾ hat eine umfassende Reihe von Untersuchungen angestellt, die es sehr wahrscheinlich machen, dass dieser Körper Aceton sei, dass Aceton in ganz geringen Mengen als normales Stoffwechselproduct im Harn enthalten sei (bis 0,01 gr. in der Tagesmenge). Sicher nachgewiesen ist jedenfalls, dass bei durch febris continua gesteigertem Stoffwechsel Aceton in nicht unbeträchtlicher Quantität — bis 0,5 gr. in 24 Stunden — ausgeschieden wird. Den exacten Beweis dafür hat v. Jaksch, abgesehen von den Acetonreactionen, durch eine Siedepunktsbestimmung mit Hülfe fractionirter Destillation erbracht. Auch Le Nobel³⁾ hat diese febrile Acetonurie bestätigt, möchte sie aber aus vermehrter Alcoholzufuhr erklären. Abgesehen davon, dass v. Jaksch bei einer Anzahl seiner Versuche den Alcohol sicher ausgeschlossen hat, ist eine Entstehung von Aceton aus (Aethyl-) Alcohol nicht denkbar; Aceton wird, abgesehen von der Essigsäure, nur aus Körpern mit 3 oder mehr Kohlenstoffatomen gebildet.

1) Archiv für Chemie und Pharmacie, Supplementband VII. S. 218.

2) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. VI, S. 355, Bd. VIII, S. 115.

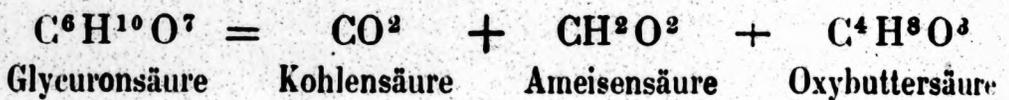
— Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VI, S. 54.

3) L. cit.

Die zahlreichen Angaben in der Literatur, wonach Aceton bei der Oxydation von Zucker und einer Reihe anderer Kohlehydrate erhalten wurde, weisen auf derartige Substanzen, insbesondere Zucker, als Quelle seiner Entstehung im Organismus hin; in diesem Sinne möge hier der Acetonurie gedacht sein.

Die angedeuteten Hypothesen dürften in der Formel zusammengefasst werden, dass die reducirende Substanz des normalen Harnes eine, aus dem Traubenzucker des Blutes stammende, mit einem stickstoffhaltigen Stoffwechselproduct verbundene Glycuronsäure sei, und dass aus dieser das im physiologischen und pathologischen Stoffwechsel vorkommende Aceton herrühre.

Herr Professor Dr. Hoppe-Seyler machte mich beim Beginn meiner Untersuchungen darauf aufmerksam, dass eine Spaltung der Glycuronsäure nach der Formel:



denkbar sei. Der von Minkowski¹⁾ und Külz²⁾ gelieferte Nachweis der Oxybuttersäure im diabetischen Harn legte es von Neuem nahe, zu untersuchen, ob die Oxybuttersäure als Spaltungsproduct der Glycuronsäure nachgewiesen und dann in den Zusammenhang zwischen Zucker, Glycuronsäure, Aceton hineingezogen werden könne; dass sie bei der Oxydation auch Aceton liefere, giebt Minkowski in seiner Arbeit S. 10 an.

Schmiedeberg und Meyer haben bei der Oxydation der (Campho-) Glycuronsäure mit Chromsäure oder Salpetersäure als Oxydationsproducte der Glycuronsäure Kohlensäure und Ameisensäure gefunden. Um festzustellen 1. ob auch bei Zerlegung der Glycuronsäure mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure Kohlensäure und Ameisensäure als Spaltungsproducte nachzuweisen seien und 2. ob dabei ausserdem Oxybuttersäure oder sonst noch eine Säure ent-

¹⁾ Archiv für experiment. Pathologie, Bd. XVIII, S. 4.

²⁾ Zeitschrift für Biologie, 1884, S. 165.

stehe, habe ich eine Anzahl von Spaltungsversuchen angestellt, die hier noch kurz berührt sein mögen.

Zu diesem Zweck stellte ich mir urochloralsaures Kalium nach den v. Mering gegebenen Vorschriften dar. Von diesem Salz wurden 20 gr. mit 5 procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler (mit einem Barytwasser enthaltenden vorgelegten Kolben) 3 Stunden lang gekocht und dann so lange abdestillirt, als Säure überging. Als Spaltungsproducte wurden erhalten: 1. Kohlensäure, 2. Ameisensäure, deren Barytsalz analysirt wurde.

Bei einer Wiederholung des Versuches nahm ein dem Rückflusskühler vorgelegter mit destillirtem Wasser gefüllter Kolben in geringer Menge einen Körper auf, der deutliche Acetonreactionen (Lieben'sche, Legal'sche, Le Nobel'sche) gab. Beim nachher vorgenommenen Abdestilliren konnten im Destillat diese Reactionen nicht mehr constatirt werden. Es schienen sich also nur Spuren von Aceton gebildet zu haben. Dass bei der Oxydation der Urochloralsäure Aceton nachgewiesen wurde, ist oben erwähnt.

Zur Darstellung von Glycuronsäure wurde eine kleinere Quantität von urochloralsaurem Kalium mit 5 procentiger Schwefelsäure 2 Stunden lang am Rückflusskühler im Sieden erhalten, nach dem Erkalten die Flüssigkeit mit Barytwasser alkalisch gemacht, Kohlensäure durchgeleitet, dann filtrirt. Das Filtrat wurde bei gelinder Wärme auf ein kleines Volumen eingedampft und wieder filtrirt, aus dem Filtrat die Glycuronsäure durch Zusatz von Barytwasser als basisches Barytsalz gefällt und wiederholt mit Barytwasser ausgewaschen. Von dem auf diese Weise erhaltenen reinen basischen glycuronsauren Baryt lieferte schon eine ganz geringe Menge bei der Oxydation mit Chromsäure ein nach Aceton riechendes Destillat, welches Legal'sche und Lieben'sche Reaction gab.

Es wurde dann weiter bei anderen Versuchen längere Zeit (10—12 Stunden) erhitzt, um womöglich die Urochloralsäure und Glycuronsäure vollständig zu zersetzen. Darauf wurde so lang abdestillirt, als Säure überging; die zurückgebliebene Flüssigkeit mit kohlensaurem Baryt und Baryt-

wasser genau neutralisirt, eingedampft, stark angesäuert (mit Schwefelsäure) und mit Aether ausgezogen. Aus dem stark sauer reagirenden Aetherextract wurde durch Umkrystallisiren aus absolutem Alcohol das Natriumsalz einer Säure dargestellt, die nur noch minimale Spuren von Chlor (beigemengte Urochloralsäure) enthielt. Die Quantität war so klein, dass eine Analyse bis jetzt nicht ausgeführt werden konnte. Immerhin wird dadurch wahrscheinlich, dass bei der Spaltung der Glycuronsäure ausser der Ameisensäure noch eine mit den Wasserdämpfen nicht flüchtige Säure entstehe. Weitere Versuche in dieser Richtung konnten für den Augenblick nicht angestellt werden, weil der Vorrath an Urochloralsäure verbraucht war.

Wenn meine Arbeit manches Hypothetische enthält, so liegt das in der Natur des Gegenstandes. Bei dem grossen physiologischen Interesse, welches sich an die reducirende Substanz des Harnes und die im Stoffwechsel ihr zukommende Rolle knüpft, dürften die erhaltenen Resultate der Mittheilung werth erscheinen.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hoppe-Seyler, für die Anregung und vielfachen Rathschläge, welche er mir bei dieser Arbeit zu Theil werden liess, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.
