

Ueber das Vorkommen von Diaminen, sogenannten Ptomainen, bei Cystinurie.

Von

L. v. Udránszky und E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 5. Mai 1889.)

Am Ende des Jahres 1887 hatten wir Gelegenheit, den Harn eines Patienten zu untersuchen, welcher in Folge von Blasensteinbeschwerden und damit verbundenem Blasencatarrh Aufnahme in der chirurgischen Klinik gefunden hatte. Dieser Harn enthielt kleine gelblich gefärbte Concremente, welche Herr Prof. Kraske als Cystinsteinchen erkannte. Bei der mit dem Patienten vorgenommenen Operation wurde eine Anzahl Cystinsteine von Erbsen- bis Bohnengrösse entfernt. Von da ab zeigte der Harn nur noch ein geringes Sediment von Cystinkrystallen. Der anfänglich von Eiterkörperchen milchig getrübe Harn wurde allmählig wieder klar, besass aber während längerer Zeit noch alkalische Reaction, auch nachdem die übrigen Anzeichen von Blasencatarrh verschwunden waren.

Ein halbes Jahr nach der Operation war der frisch entleerte Harn beinahe klar, und reagirte entweder neutral oder schwach alkalisch; nur selten wurde schwach saure Reaction beobachtet.

Die Cystinausscheidung war so oft wir den Harn untersuchten — an ca. 50 Tagen zu verschiedenen Zeiten während eines Jahres — immer vorhanden. Das Sediment von Cystin-

krystallen, welche beim Stehen des Harns sich regelmässig absonderten, war fast immer sehr gering.

Im Interesse einer häufigeren chemischen Untersuchung der Harns dieses Patienten hat Herr Prof. Kraske die wiederholte Aufnahme desselben in seine Klinik im Frühling, im Sommer und im Herbst des letzten Jahres ermöglicht, obwohl der frühere Patient weder über Harnbeschwerden, noch über Störungen in der Ausübung seines Berufes — er ist Schneider in einem Dorfe am Kaiserstuhl — sich zu beklagen hatte. Für die uns hierdurch zu Theil gewordene Förderung unserer Untersuchungen sprechen wir Herrn Prof. Kraske auch an dieser Stelle unseren lebhaftesten Dank aus.

Die Ausscheidung des Cystins und der anderen Schwefelverbindungen in dem Harn der genannten Person ist eingehend und in fortlaufenden Reihen von Herrn B. Mester untersucht worden, welcher seine auch nach anderen Richtungen ausgedehnten Beobachtungen in einer folgenden Mittheilung in dieser Zeitschrift veröffentlichen wird.

Die folgenden Untersuchungen haben ausschliesslich das sehr bemerkenswerthe Vorkommen von Diaminen im Harn bei Cystinurie zum Gegenstande, über welches wir einige vorläufige Mittheilungen an anderer Stelle gebracht haben¹⁾. Diese Diamine gehören zu den von L. Brieger entdeckten und rein dargestellten Ptomainen, welche von diesem Autor unter dem Namen Cadaverin und Putrescin beschrieben worden sind. Das Cadaverin $C_4H_{11}N_3$ ist, wie Ladenburg²⁾ und Brieger³⁾ gezeigt haben, identisch mit Pentamethyldiamin. Dass Brieger's Putrescin $C_4H_{11}N_3$ nichts Anderes als Tetramethyldiamin ist, haben wir kürzlich nachgewiesen⁴⁾.

Wir haben diese Körper, welche wir in dem Harn des genannten Patienten zuerst im December 1887 beobachteten,

¹⁾ Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2744 und 2938.

²⁾ Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XIX, S. 2585.

³⁾ L. Brieger, Untersuchungen über die Ptomaine, Berlin 1886.

⁴⁾ Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2938.

seit dieser Zeit wiederholt aus dem Harn desselben dargestellt, und zwar zuletzt 10 Monate nach ihrer ersten Auffindung. Zu ihrer Isolirung diente uns eine Reaction, welche für die Abscheidung von mehrwerthigen Alkoholen, und besonders der Kohlehydrate aus dem Harn sehr gute Dienste leistet. Diese besteht in der Ueberführung der genannten Substanzen in Benzoylverbindungen, welche in Wasser ganz unlöslich, und durch grosse Beständigkeit ausgezeichnet sind¹⁾. Aus einem Gemenge mehrerer Diamine können die Benzoylverbindungen der einzelnen Basen durch ihre Löslichkeitsunterschiede in Aether und in Weingeist fast ohne Verluste getrennt werden.

1. Darstellung der Benzoylverbindungen der Diamine aus dem Cystinharn.

Die Tagesmenge des Harns (durchschnittlich ca. 1500 cbcm.) wurde mit 200 cbcm. Natronlauge von 10 Procent versetzt und hierauf mit 20 bis 25 cbcm. Benzoylchlorid so lange geschüttelt, bis der Geruch des letzteren verschwunden war. Dabei entstand eine ziemlich reichliche Abscheidung eines gelblich weissen Niederschlages, welcher ausser den unlöslichen Phosphaten die Benzoylverbindungen der normalen Kohlehydrate des Harns und den grösseren Theil der Benzoylverbindungen der vorhandenen Diamine enthielt. Ein anderer Theil der letzteren bleibt in der vom Niederschlage abfiltrirten, etwas trüben Flüssigkeit gelöst; dieser meist geringere Antheil wird zugleich mit dem Benzoylcystin in folgender Weise gewonnen:

Die abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Schwefelsäure stark angesäuert, wobei eine reichliche Abscheidung von Benzoesäure erfolgt, und mit dem gleichen Volum von gewöhnlichem Aether 3mal ausgeschüttelt. Dadurch werden der wässerigen Flüssigkeit die Benzoesäure, das Benzoylcystin und die vor-

¹⁾ Vergl. Das Benzoylchlorid als Reagens, Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2744.

handenen Benzoyldiamine entzogen¹⁾). Nachdem der Aether abdestillirt ist, wird der Rückstand, bevor er erstarrt ist, in ungefähr so viel 12procentige Natronlauge eingetragen, als zur Neutralisation erforderlich ist. Die so erhaltene, mehr oder weniger getrübe braune Flüssigkeit wird mit dem 3- bis 4fachen Volum derselben Natronlauge vermischt und in die Kälte gestellt. Sehr oft erscheint diese schon nach kurzer Zeit von langen Krystallnadeln und Blättchen so durchsetzt, dass sie eine breiförmige Masse bildet. Nach 12—24 stündigem Stehen werden die Krystalle mit der Pumpe abgesaugt, und mit wenig kalter Natronlauge gewaschen. Die Krystalle bestehen aus der Natriumverbindung des Benzoyleystins, welche in Wasser leicht, in Natronlauge fast unlöslich ist, und den Benzoylverbindungen der Diamine. Die beiden Körper werden durch kaltes Wasser, in welchem die zuletzt genannten Stoffe unlöslich sind, getrennt. Zur weiteren Reinigung werden die benzoylirten Diamine in wenig warmem Weingeist gelöst und durch viel Wasser aus dieser Lösung in Form voluminöser farbloser nadelförmiger Krystalle abgeschieden.

Ein grösserer Theil, das Doppelte bis Dreifache von den in oben beschriebener Weise erhaltenen Benzoyldiaminen, findet sich in dem Niederschlage, welcher beim Schütteln des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge unmittelbar sich abscheidet. Dieser Niederschlag wird mit Weingeist digerirt, die abfiltrirte bräunlich gefärbte Lösung wird bis auf ein kleines Volum eingedunstet und in etwa die 30fache Menge kalten Wassers eingegossen. In der alsbald milchig getrüben Flüssigkeit bilden sich beim Stehen die nadelförmigen Krystalle der Benzoyldiamine, welche nach einem oder mehreren Tagen abfiltrirt werden. Das Filtrat zeigt immer eine ziem-

¹⁾ Die Benzoyldiamine sind in Wasser so gut wie unlöslich, werden aber von grossen Mengen salzreicher Flüssigkeiten merklich gelöst. Auch in reinem Aether sind sie fast unlöslich; die Gegenwart anderer in Aether leicht löslicher Stoffe, wie Benzoesäure, bewirkt aber, dass sie durch Aether wässerigen Flüssigkeiten vollkommen entzogen werden.

lich starke milchige Opalescenz, welche von den durch Wasser gleichfalls gefällten Benzoylverbindungen der Kohlehydrate¹⁾ des Harns herrührt. Der Krystallbrei wird auf dem Filter mit Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat ganz klar abfließt. Zur völligen Beseitigung der Benzoylverbindungen der Kohlehydrate werden die Krystalle nochmals in Weingeist gelöst und von Neuem mit Wasser gefällt. Die so gewonnenen Benzoylverbindungen der Diamine stellen eine sehr voluminöse Masse kleiner blendend weisser nadelförmiger Krystalle dar, welche durchaus identisch sind mit den früher genannten, aus dem Aetherauszug des Harns erzielten Krystallen. Dieselben beginnen bei etwas über 120° zu sintern, schmelzen völlig aber erst über 140° . Hieraus, sowie aus den Ergebnissen einiger Analysen, welche keine für eine einfache Formel stimmenden Werthe lieferten, war zu schliessen, dass das schön krystallisirte Präparat aus einem Gemenge bestand. Dieser Schluss wurde durch weitere Versuche bestätigt, durch welche wir eine sehr einfache und fast quantitative Trennung dieses Gemenges kennen lernten. Letztere wird in folgender Weise bewirkt: Man löst die Krystalle in ebenso viel warmem Weingeist, als zur Lösung erforderlich ist, und giesst diese Lösung in das 20fache Volum Aether; alsbald oder nach kurzer Zeit beginnt eine Krystallisation, welche man durch Abkühlen oder Umrühren beschleunigt. Die abfiltrirten Krystalle schmolzen bei $170-173^{\circ}$. Durch 1—2maliges Umkrystallisiren aus Weingeist wird der Schmelzpunkt bei 175 bis 176° constant. Die Untersuchung dieser Substanz liess sie als die Benzoylverbindung des Tetramethyldiamins erkennen.

Die von den Krystallen abfiltrirte Flüssigkeit lieferte nach Verdunsten des Aethers und Alkohols eine farblose strahlige Krystallmasse, welche durch Umkrystallisiren aus

¹⁾ Diese Substanzen sind im Harn des Cystinpatienten nicht über die Norm vermehrt, wie die Prüfung des ganz frischen Harns mit Hilfe der Furfurolreaction (vergl. L. v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. XII S. 377) ergab.

Weingeist gleichfalls weiter gereinigt wurde. Man erhielt so eine zweite Substanz, welche, wie die bei 175° schmelzende, seidenglänzende Nadeln und langgestreckte Blättchen bildet, deren Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren aus Weingeist bei $129-130^{\circ}$ constant wurde. Diese Substanz, welche den Hauptbestandtheil des Gemenges bildete, erwies sich als Benzoylpentamethyldiamin.

2. Pentamethyldiamin $C_5H_{14}N_2$ (Cadaverin).

Die Ausbeute an der bei $129-130^{\circ}$ schmelzenden Substanz war stets grösser als diejenige der höher schmelzenden Benzoylverbindung; sie betrug durchschnittlich ca. $\frac{2}{3}$ von dem Gemenge der Benzoylverbindungen. Beim vorsichtigen Erhitzen sublimiren beide Körper unzersetzt.

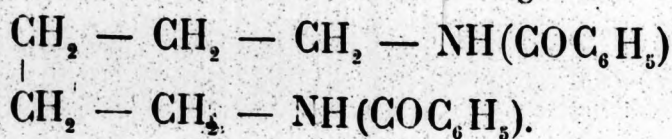
Die Analysen der ersten Substanz ergaben folgende Werthe, wobei noch zu bemerken ist, dass die Analysen 1—4 mit einem Präparate, dessen Schmelzpunkt bei $126-127^{\circ}$ lag, ausgeführt wurden, während zu den Analysen 5—8 eine durch wiederholtes Umkrystallisiren vollkommen gereinigte Substanz, welche genau bei $129,5^{\circ}$ schmolz, verwendet wurde.

- | | | | |
|----|----------------------------|---|--------------|
| 1. | 0,1923 gr. Substanz gaben: | 0,5215 gr. CO_2 | = 73,96 % C. |
| | | 0,1230 » H_2O | = 7,10 » H. |
| 2. | 0,1385 » » » | 0,375 gr. CO_2 | = 73,89 % C. |
| | | 0,0908 » H_2O | = 7,29 » H. |
| 3. | 0,2265 » » » | 18,4 cbcm. Stickstoff bei 15° und 741 B. | = 9,27 % N. |
| 4. | 0,1879 » » » | 15,2 cbcm. N bei $16,5^{\circ}$ und 739 B. | = 9,14 % N. |
| 5. | 0,2113 » » » | 0,5665 gr. CO_2 | = 73,12 % C. |
| | | 0,1367 » H_2O | = 7,18 » H. |
| 6. | 0,2138 » » » | 0,5743 gr. CO_2 | = 73,26 % C. |
| | | 0,1375 » H_2O | = 7,14 » H. |
| 7. | 0,1008 » » » | 7,9 cbcm. N bei 22° und 735 B. | = 8,578 % N. |
| 8. | 0,1869 » » » | 16,1 cbcm. N bei $29,5^{\circ}$ und 738 B. | = 9,08 % N. |

Zusammenstellung der Analysen:

Substanz v. Schmelzp. 126—127°:				Substanz v. Schmelzp. 129,5°:				
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
C	73,96	73,89	—	—	73,12	73,26	—	— ^o
H	7,10	7,28	—	—	7,18	7,14	—	— [»]
N	—	—	9,27	9,14	—	—	8,58	9,08 [»]
				Mittel				Berechnet für
				der Analysen:				C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂ :
	C			73,57				73,55 ^o ₁₀ .
	H			7,17				7,09 [»]
	N			9,04				9,03 [»]

Da die Kohlenstoffbestimmungen unserer Analysen bei Präparaten verschiedener Darstellungen noch merklich von den ausgerechneten Mittelwerthen abweichen, musste der Beweis, dass unserer Substanz die Zusammensetzung C₁₉H₂₂N₂O₂ zukomme, noch auf anderem Wege geliefert werden. Dieser Nachweis wurde dadurch geführt, dass die Substanz in Pentamethyldiamin und Benzoesäure glatt gespalten wurde. Das Pentamethyldiamin liefert andererseits bei Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge einen Körper, welcher in jeder Hinsicht mit unserer Substanz übereinstimmt. Die Constitution der letzteren ist deshalb die folgende:



Die Dibenzoylverbindung ist ausserordentlich beständig gegen Säuren und gegen Alkalien. Concentrirte Schwefelsäure löst dieselbe leicht auf, durch Wasser wird aus dieser Lösung die unveränderte Substanz wieder abgeschieden. Erst bei längerem Erhitzen mit starken Säuren tritt eine Zersetzung ein. Zur völligen Abspaltung der Benzoesäure ist tagelanges Erhitzen mit concentrirter Salzsäure in alkoholischer Lösung erforderlich.

13 gr. der aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindung wurden mit einer Mischung aus gleichen Theilen Alkohol und concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt, bis eine herausgenommene Probe von verdünnter

Natronlauge völlig gelöst wurde. Nach 2 Tagen war die Spaltung beendet; die beim Verdünnen mit Wasser abgeschiedene Benzoesäure wurde abfiltrirt; das Filtrat wurde durch Ausschütteln mit Aether von der Benzoesäure befreit und zur Trockene verdunstet. Es hinterliess eine strahlige Krystallmasse, welche in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer sich löste. Eine Spur dieses Rückstandes, der Chlorwasserstoffverbindung einer starken Base, gab beim Erhitzen mit Aetzkali einen eigenartigen sehr penetranten Geruch, welcher sofort an die von Brieger entdeckten Ptomaine erinnerte. Brieger hat diesen an «Sperma erinnernden» Geruch zuerst beim Neuridin beobachtet, später als charakteristische Eigenschaft besonders des Cadaverins und in geringerem Maasse des Putrescins erkannt. Die folgenden Versuche liessen die Natur der vorliegenden Base genau erkennen.

Aus der weingeistigen Lösung des salzsauren Salzes wurde durch alkoholisches Platinchlorid ein reichlicher, gelber, krystallinischer Niederschlag eines Platinchlorid-Doppelsalzes gefällt, welches durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt wurde. Beim langsamen Erkalten der Lösung entstanden vollkommen ausgebildete rothgelbe Krystalle von oktaëderähnlichem Habitus, welche die grösste Aehnlichkeit zeigen mit Brieger's¹⁾ Abbildungen des salzsauren Cadaverin-Platinchlorids. Bei einer anderen Krystallisation wurde dasselbe Salz in büschelförmig vereinigten langgestreckten Säulen erhalten. Eine Platinbestimmung mit 0,3746 gr. Substanz lieferte 0,1425 gr. = 38,04% Pt. Das Doppelsalz $C_5H_{10}(NH_2HCl)_2 + PtCl_4$ enthält 38,02% Pt. Zur weiteren Feststellung der Base wurden 12 gr. des Platinsalzes zur Darstellung der freien Base mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das wiedergewonnene salzsaure Salz wurde mit Aetzkali destillirt, dabei ging zuerst etwas Wasser, und über 160° ein farbloses Oel über, dessen Siedepunkt bei erneuter Destillation bei 173° (uncorr.) beobachtet wurde. Der Siedepunkt des Cadaverins, d. i. des Penta-

¹⁾ L. Brieger, Ptomaine.

methyldiamins liegt nach Ladenburg¹⁾ bei 175—178°. Die freie Base besitzt den schon erwähnten Geruch, raucht an der Luft, und zieht mit grosser Begierde Kohlensäure an, wobei sie sich in eine feste weisse Masse von kohlensaurem Salz verwandelt.

Nach dem Bisherigen erschien es sehr wahrscheinlich, dass unsere Base nichts Anderes als Pentamethyldiamin (Cadaverin) sei. Durch die folgenden Versuche wird jeder Zweifel an der Identität unserer Substanz mit der von Brieger und von Ladenburg beschriebenen Base beseitigt.

Brieger beschreibt als eine sehr charakteristische Eigenschaft des Cadaverins seine Verbindung mit Pikrinsäure, welche in kaltem Wasser fast unlöslich ist, in dünnen Nadeln und langgestreckten Tafeln krystallisirt, und bei ca. 221° unter Zersetzung schmilzt. Wir erhielten aus der wässerigen Lösung unserer Base ein Pikrat in grosser Menge, das die von Brieger angegebenen Eigenschaften besass. Dasselbe begann bei 220° zu schmelzen und war bei 222° völlig zu einer schwarzen Flüssigkeit geschmolzen, aus welcher reichlich Gasblasen sich entwickelten. Die Analyse des in Wasser fast unlöslichen Salzes ergab für das Pikrat des Pentamethyldiamins $C_5H_{14}N_2(C_6H_3N_3O_7)_2$ gut stimmende Werthe:

1. 0,1962 gr. Substanz gaben: 0,2630 gr. CO_2 = 36,55% C.
0,0703 » H_2O = 3,97 » H.
2. 0,2318 » » » 40,4 cbcm. N bei 14,5° und 737 B.
= 19,83% N.

Berechnet für			Gefunden:	
$C_5H_{14}N_2(C_6H_3N_3O_7)_2$:			1.	2.
C_{17}	= 204	36,42	36,55	—
H_{20}	= 20	3,57	3,97	—
N_8	= 112	20,00	—	19,83
O_{14}	= 224	40,00	—	—
	560	99,99		

Da Benzoylverbindungen des Pentamethyldiamins noch nicht beschrieben sind, haben wir uns nach Ladenburg's

¹⁾ D. Chem. Ges., Bd. XVIII, S. 2957.

Methode aus Trimethylenbromid eine kleine Menge der Base dargestellt, und diese in wässriger Lösung benzoylirt. Nach einmaligem Umkrystallisiren dieser Benzoylverbindung aus Weingeist erhielten wir Krystalle, welche bei 130° schmolzen, und in Nichts von der oben beschriebenen Benzoylverbindung differirten. Eine C- und H-Bestimmung ergab die von der Theorie geforderten Werthe:

Analyse:

0,1875 gr. Substanz gaben: 0,5075 gr. CO_2 = 73,81% C.

0,1260 » H_2O = 7,46 » H.

Gefunden: Berechnet für
 $\text{C}_5\text{H}_{10}(\text{NHCOC}_6\text{H}_5)_2$:

C	73,81	73,55%
H	7,46	7,09 »

Herr Prof. Brieger hatte die Freundlichkeit, uns eine kleine Menge der bei der Fäulniss gebildeten Base zu überlassen. Wir erhielten auch aus diesem Product eine Benzoylverbindung vom Schmp. 130° , welche in allen Eigenschaften mit der aus dem Harn gewonnenen und der aus synthetischem Pentamethyldiamin gebildeten Benzoyldiamin übereinstimmte.

Durch alle im Vorstehenden genannten und geschilderten Versuche wird bewiesen, dass der Harn des Cystinpatienten Pentamethyldiamin enthielt. Die Identität dieses Körpers mit dem Cadaverin Brieger's ist vor Kurzem von Ladenburg (l. c.) nachgewiesen und von Brieger (l. c.) bestätigt worden.

Die Theorie lässt die Existenz von nicht weniger als 12 Körpern der Zusammensetzung $\text{C}_5\text{H}_{10}(\text{NH}_2)_2$ voraussehen, in welchen die NH_2 -Gruppen an verschiedene Kohlenstoffatome gebunden sind. Von den Isomeren des Pentamethyldiamins ist zwar noch keines hinsichtlich seiner Constitution bekannt, indessen hat Brieger ausser dem Pentamethyldiamin noch 2 Ptomaine derselben Zusammensetzung, welche er Neuridin und Saprin benannt hat, dargestellt, und mehrere Salze dieser Basen beschrieben. Einige Beobachtungen machten es uns anfänglich wahrscheinlich, dass neben dem Pentamethyldiamin eine isomere Base in dem von uns untersuchten Harn ent-

halten sei. Bei der Darstellung einer grösseren Menge des oben beschriebenen Platinsalzes aus der noch nicht völlig gereinigten Benzoylverbindung fanden wir, dass die Mutterlaugen, aus welchen der grösste Theil des Doppelsalzes auskrystallisirt war, ein leichter lösliches Salz enthielten, welches beim Verdunsten in gelben Krystallschüppchen sich absetzte. Der Platingehalt dieses Salzes stimmte fast genau mit dem des früher beschriebenen Doppelsalzes überein:

1. 0,1667 gr. des Salzes gaben: 0,063 gr. = 37,79% Pt.
 2. 0,1665 » » » » 0,0628 » = 37,71 » »

	Gefunden:		Berechnet für $C_5H_{16}N_2PtCl_6$:
	1.	2.	
Pt	37,79	37,71	38,02.

Der Schluss, dass die Platinsalze von 2 isomeren Basen vorliegen, schien durch die Beobachtung Brieger's, nach welcher die Platindoppelsalze sowohl des Neuridins als auch des Saprins leicht löslich sind, eine gewisse Stütze zu gewinnen. Die genauere Untersuchung der Mutterlaugen überzeugte uns indessen, dass in unserem Falle sicher nur Pentamethyldiamin ohne jede Beimengung einer isomeren Substanz vorlag. Wurde das aus den Mutterlaugen gewonnene leicht lösliche Platinsalz aus der concentrirten wässerigen Lösung durch Weingeist gefällt und dann aus heissem Wasser 1- bis 2mal krystallisirt, so erhielt man wieder das schwer lösliche Salz, welches in Krystallform und Löslichkeit genau mit dem zuerst dargestellten Salze übereinstimmte, ein Beweis, dass das scheinbar leicht lösliche Salz diese Eigenschaft nur durch gewisse Verunreinigungen erhalten hatte.

Bei dieser Gelegenheit wurde die Löslichkeit des salzsauren Pentamethyldiamin-Platinechlorids ermittelt; dasselbe braucht 113 bis 114 Theile Wasser von 12° zur Lösung.

Einen weiteren Beweis dafür, dass isomere Basen von der Formel $C_5H_{16}N_2$ in den aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindungen nicht enthalten sind, ergab die Benzoylirung der letzten Mutterlaugen des Platindoppelsalzes. Dieselben lieferten ausschliesslich das bei 129—130° schmelzende Dibenzoylpentamethyldiamin.

3. Tetramethyldiamin $C_4H_8(NH_2)_2$ (Putrescin).

Die bei $175-176^\circ$ schmelzende Benzoylverbindung, deren Darstellung früher beschrieben wurde, ist in Weingeist merklich schwerer löslich, als das Benzoylpentamethyldiamin; sonst ist sie letzterem durchaus ähnlich. Seine Analyse ergab Werthe, welche für die Benzoylverbindung eines Diamins mit 4 Atomen Kohlenstoff sehr nahe stimmten.

Analysen:

1. 0,215 gr. Substanz gaben: 0,5722 gr. CO_2 = 72,58 % C.
0,1350 » H_2O = 6,95 % H.
2. 0,2033 » » » 17,2 cbcm. N bei 12° und 737 B.
= 9,73 % N.
3. 0,2692 » » » 22,5 cbcm. N bei 13° und 737 B.
= 9,56 % N.

Berechnet für			Gefunden:		
$C_4H_8(NHCOC_6H_5)_2$:			1.	2.	3.
C_{18} =	216	72,97 %	72,58	—	—
H_{20} =	20	6,75 %	6,95	—	—
N_2 =	28	9,46 %	—	9,73	9,56
O_2 =	32	10,81 %	—	—	—
	296	99,99			

Eine kleine Quantität der Benzoylverbindung (2,5 gr.) wurde durch 12stündiges Erhitzen mit Alkohol und Salzsäure gespalten. Nach Entfernung der Benzoesäure wurde beim Verdunsten der Flüssigkeit ein in Alkohol schwer lösliches salzsaures Salz erhalten, aus welchem durch Alkali die freie Base abgeschieden wurde. Diese besass einen dem Pentamethyldiamin durchaus ähnlichen Geruch. Aus der concentrirten wässerigen Lösung des salzsauren Salzes wurde durch Platinchlorid und Alkohol das Platindoppelsalz gefällt. Dieses bildete nach dem Umkrystallisiren aus Wasser feine Prismen, welche meist zu Drusen verwachsen waren. Die Analyse desselben lieferte folgende Werthe:

1. 0,1997 gr. Substanz gaben: 0,0783 gr. = 39,21 % Pt.
2. 0,0710 » » » 0,0280 » = 39,43 % »

		Gefunden:		Berechnet für	
		1.	2.	$C_4H_8(NH_2HCl)_2 + PtCl_4$:	
Pt		39,21	39,43	39,15 %	

Um die Constitution dieser zweiten Base zu ermitteln, musste wieder die Vergleichung derselben mit den Körpern von der Zusammensetzung $C_4H_{12}N_2$ und von bekannter Constitution durchgeführt werden. Es lag am nächsten, mit dem Tetramethyldiamin zu beginnen. Letzteres stellten wir uns aus Aethylencyanid dar. Das Aethylencyanid wurde nach Ladenburg's¹⁾ Vorschrift in absolutem Alkohol bei Siedetemperatur mit metallischem Natrium reducirt.

Das hierbei gebildete Tetramethyldiamin wurde mit überhitztem Wasserdampf abdestillirt, und direct benzoylirt. Das Reactionsproduct wurde aus heissem Weingeist umkrySTALLISIRT, und bildete, so gereinigt, farblose langgestreckte Nadeln, welche bei $175-176^\circ$ schmolzen und in jeder Hinsicht mit der aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindung vom gleichen Schmelzpunkt als identisch sich erwiesen.

Analysen:

1. 0,208 gr. Substanz gaben: 0,5572 gr. CO_2 = 73,06 % C.
0,1225 » H_2O = 6,54 » H.
2. 0,1987 » » » 17,1 chem. N bei 27° und 740 B.
= 9,24 % N.

	Gefunden:		Theorie für $C_4H_8(NHCO C_6H_5)_2$:
	1.	2.	
C	73,06	—	72,97 %.
H	6,54	—	6,75 »
N	—	9,24	9,46 »

Es besteht somit kein Zweifel darüber, dass das zweite aus dem Cystinharn abgeschiedene Diamin mit dem Tetramethyldiamin identisch ist.

Brieger hat unter den von ihm entdeckten Ptomainen einen Körper von der Zusammensetzung $C_4H_{12}N_2$, welchen er Putrescin nannte, genauer untersucht und beschrieben.

Es war von nicht geringem Interesse, festzustellen, ob Brieger's Putrescin mit der aus dem Cystinharn gewonnenen Base identisch oder nur isomer ist. Wenn Ersteres der Fall,

¹⁾ D. Chem. Ges., Bd. XVI, S. 360.

so war zugleich die Constitution einer weiteren Substanz aus der Reihe der von Brieger entdeckten Ptomaine ermittelt. Wir sind deshalb Herrn Prof. Brieger für die Ueberlassung einer Probe seines Putrescins zum Zwecke der Vergleichung dieses Körpers mit unserer Base zu besonderem Danke verpflichtet.

Bei der Benzoylirung des Putrescins wurde die Vermuthung, dass diese Base nichts Anderes als Tetramethylen-diamin sei, welche Herr Prof. Brieger von vornherein mit uns theilte, durchaus bestätigt. Der Schmelzpunkt der einmal aus Weingeist krystallisirten Benzoylverbindung lag bei 175° . Löslichkeit, Krystallform und Zusammensetzung derselben stimmten durchaus mit der aus dem Cystinharn und der aus dem Tetramethylen-diamin erhaltenen Benzoylverbindung überein.

Analysen:

1. 0,1898 gr. Substanz gaben: 0,5037 gr. CO_2 = 72,37% C.
0,1130 » H_2O = 6,66 » H.
2. 0,2155 » » » 0,5720 gr. CO_2 = 72,39% C.
0,1340 » H_2O = 6,91 » H.
3. 0,2030 » » » 16,8 cbcm. N bei 17° und 749 B.
= 9,45% N.

	Gefunden:			Berechnet für $\text{C}_4\text{H}_8(\text{NHCOC}_6\text{H}_5)_2$:
	1.	2.	3.	
C	72,37	72,39	—	72,97%
H	6,66	6,91	—	6,75 »
N	—	—	9,45	9,46 »

Brieger ermittelte den Siedepunkt des Putrescins bei $156\text{--}157^{\circ}$. Ladenburg¹⁾ fand denjenigen des Tetramethylen-diamins bei $158\text{--}160^{\circ}$.

Wir beobachteten den Schmelzpunkt der Brieger'schen Base bei 24° , das Tetramethylen-diamin schmilzt nach Ladenburg¹⁾ bei $23\text{--}24^{\circ}$.

Die Identität von Putrescin mit dem Tetramethylen-diamin ist somit nicht zu bezweifeln.

¹⁾ D. Chem. Ges., Bd. XIX, S. 781.

4. Ueber die quantitative Bestimmung der Diamine in wässerigen Lösungen und im Harn.

Um zu ermitteln, in wie weit die Abscheidung der Benzoylverbindungen der Diamine zur quantitativen Ermittlung dieser Stoffe im Harn verwerthet werden kann, haben wir mehrere Versuche angestellt, welche Folgendes ergaben.

Lösungen von Pentamethylendiamin und von Tetramethylendiamin liefern bei einer Verdünnung von 1 : 10,000 eine nahezu quantitative Ausbeute der entsprechenden Benzoylverbindungen. $\frac{1}{2}$ Liter Wasser, welchem 0,005 gr. der Basen zugesetzt wurden, gibt noch eine bemerkbare Abscheidung der krystallisirten Benzoylverbindungen. Bei dieser Verdünnung von 1 : 100,000 ist aber die Grenze der Anwendbarkeit schon überschritten. Aus folgenden Beispielen wurden die Verhältnisse für wässerige Lösungen und beim Harn ersichtlich:

Versuch 1. Eine Lösung von 0,00788 gr. Pentamethylendiamin in 100 cbcm. Wasser lieferte beim Schütteln mit 5 cbcm. Benzoylchlorid und 45 cbcm. Natronlauge von 10% 0,0218 gr. der Benzoylverbindung vom Schmelzpunkt 129 bis 130°, somit eine Ausbeute von 92% der theoretischen. Die Verdünnung der Lösung, welche benzoylirt wurde, war 1 : 12600.

Versuch 2. Als dieselbe Menge der Base (0,00788 gr.) in 175 cbcm. Wasser gelöst in sonst gleicher Weise benzoylirt wurde, erhielten wir nur 0,0142 gr. der Benzoylirung (Schmp. 129–130°). In diesem Falle betrug die Verdünnung der Lösung 1 : 22,200 und die Ausbeute 60,4% der theoretisch möglichen.

Versuch 3. 0,050 gr. Tetramethylendiamin wurden zu 500 cbcm. normalem Harn (welches frei von Diaminen war) hinzugefügt. Dieser Harn wurde mit 10 cbcm. Benzoylchlorid und 100 cbcm. Natronlauge (von 10%) geschüttelt, und genau in der S. 564 beschriebenen Weise verarbeitet. Wir erhielten

0,103 gr. farblose Krystalle von Benzoyltetramethyldiamin, welche bei $172-173^{\circ}$ (statt $175-176^{\circ}$) schmolzen. Bei der Prüfung dieser Krystalle mit α -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure wurde eine noch eben erkennbare Furfurolreaction erhalten, welche auf eine minimale Verunreinigung der Krystalle mit benzoylirten Kohlehydraten hindeutet, deren Gewicht jedenfalls nicht in Betracht kommt.

Die Harnlösung des Tetramethyldiamins war hier auf 1 : 10,000 verdünnt. 0,050 gr. der freien Base würden nach der Theorie 0,168 gr. der Benzoylverbindung liefern. Die Menge der aus dem Harn wieder isolirten Base betrug somit 60 % des theoretischen Werthes.

Diese Versuche zeigen, dass noch sehr geringe Mengen der Diamine mit Hilfe von Benzoylchlorid aus wässrigen Lösungen und aus Harn abgeschieden werden können, und dass diese Abscheidung, unter Berücksichtigung der in den obigen Versuchen geschilderten Verhältnisse, zu quantitativen Bestimmungen derselben wohl verwerthbar ist.

Da die Pikrinsäureverbindungen der Diamine, wie Brieger gefunden hat, in kaltem Wasser fast unlöslich sind, versuchten wir auch auf diesem Wege die Abscheidung derselben aus verdünnten Lösungen zu bewirken. Eine Lösung von Pentamethyldiamin oder Tetramethyldiamin von 1 : 1000 in Wasser gibt mit Pikrinsäure augenblicklich eine reichliche Fällung der Pikrate. Bei einer Verdünnung von 1 : 10,000 tritt die Abscheidung nicht mehr sofort ein; aber beim Stehen der mit Pikrinsäure versetzten Lösungen scheiden sich nach einiger Zeit lange Nadeln der Pikrate aus. Bei einer Verdünnung von 1 : 100,000 wird auch nach längerem Stehen nichts mehr abgeschieden. Ein Versuch, aus 500 ccm. Harn, welchem 0,050 gr. Pentamethyldiamin zugesetzt worden waren, die Base mittelst Pikrinsäure abzuscheiden, und dieses Pikrat wieder durch Lösen in Natronlauge und Schütteln mit Benzoylchlorid in die Benzoylverbindung zu verwandeln, ergab eine so geringe Ausbeute an letzterer, dass diese Methode zu quantitativen Bestimmungen der Diamine im Harn nicht weiter befolgt wurde.

5. Ueber die Verhältnisse der Diaminausscheidung im Harn bei Cystinurie.

Wir haben in 4 verschiedenen Perioden zwischen December 1887 und December 1888 jeweils 8—18 Tage lang den Harn des Cystinpatienten auf Diamine geprüft, und dabei diese Körper regelmässig meist in Mengen von 0,2 bis 0,4 gr. der Benzoylverbindungen aus dem Tagesharn gewonnen. Wir haben von dem fast reinen Gemenge der beiden Benzoylverbindungen aus dem Harn mehr als 30 gr. in Händen gehabt. Ungefähr $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ derselben bestand aus der Verbindung des Tetramethyldiamins, während der übrige grössere Theil der Benzoylverbindung des Pentamethyldiamins angehörte. Beispielsweise ergab die Trennung der Benzoylverbindungen, welche aus dem Harn von 2 Tagen im Gewichte von 0,6655 gr. dargestellt worden waren, folgendes Resultat: Das Gemenge, welches von 125—145° schmolz, wurde in möglichst wenig Alkohol gelöst und diese Lösung in viel Aether gegossen. Hierbei krystallisirten 0,2433 gr. Benzoyltetramethyldiamin (36%), welches bei 173° (statt 175—176°) schmolz, somit noch nicht völlig rein war, aus. Aus der alkohol-ätherischen Lösung wurde nach Verdunsten des Aethers durch viel Wasserzusatz die Verbindung des Pentamethyldiamins gefällt. Von letzterer wurden 0,4178 gr. (63%) erhalten. Aus diesem Versuche ist ersichtlich, dass man die beiden Benzoylverbindungen fast ohne Verlust von einander trennen kann.

Allein das Verhältniss der Diamine in dem Harn blieb so wenig constant, als die absolute Menge derselben. In einzelnen Fällen beobachteten wir ein Ueberwiegen des Tetramethyldiamins über die andere Base, namentlich wenn die absolute Menge der Basen relativ gering war.

Der Harn des Cystinpatienten wurde, wie schon mitgetheilt, an ca. 50 Tagen mit positivem Erfolg in 4 Zeiträumen, welche über mehr als 1 Jahr vertheilt waren, untersucht: regelmässig wurden neben dem Cystin die beiden Diamine gefunden. Im December 1888 hatten wir zuletzt Gelegenheit, denselben Harn an 9 auf einander folgenden

Tagen zu prüfen. Dabei zeigte sich eine beträchtliche Abnahme der Diaminausscheidung, so zwar, dass wir an einem Tage nur 0,091 gr. Benzoylverbindung gewannen, welche nach ihrem Schmelzpunkte als fast reines Benzoyltetramethylen-diamin sich erwies. An den übrigen 8 Tagen konnten wägbare Mengen der sonst regelmässig gefundenen Diamine nicht erhalten werden.

Während dieser Zeit bestand die Cystinausscheidung fort, indem jeder Tagesharn ein geringes Cystinsediment gab. An 8 Tagen wurde die Cystinausscheidung durch Darstellung des Benzoylcystins ermittelt, wobei zu erinnern ist, dass diese Methode etwas zu niedere Werthe liefert. Am 1. Tag wurden 0,522 gr., am 2. Tage 0,485 gr. Benzoylcystin aus dem Tagesharn erhalten. Aus dem Harn der folgenden 6 Tage wurden zusammen 3,030 gr. Benzoylcystin gewonnen, d. i. 0,505 gr. Benzoylcystin oder 0,207 gr. Cystin pro Tag.

Der frische Harn reagierte während dieser Zeit an 2 Tagen alkalisch, 3mal neutral und an 2 Tagen schwach sauer. Blasencatarrh bestand in dieser Zeit nicht.

Während dieser letzten Periode, wo an den meisten Tagen Diamine im Harn nicht wahrnehmbar waren, wurden diese Körper in den Darmentleerungen des Cystinpatienten in reichlichen Mengen gefunden, worüber weiter unten berichtet wird.

6. Ueber das Vorkommen von «Ptomainen» in normalem und pathologischem Harn.

Die beiden aus dem Cystinharn gewonnenen Diamine gehören zu den Körpern, welche gegenwärtig unter dem Namen «Ptomaine» zusammengefasst werden. Bevor weitere Schlüsse aus dem von uns beobachteten Vorkommen dieser Substanzen im Harn des Cystinpatienten gezogen werden, ist die Frage zu beantworten, ob und unter welchen Umständen solche oder verwandte Körper bis jetzt im menschlichen Harn aufgefunden worden sind. Da die Bezeichnung Ptomaine neuerdings in verschiedenem Sinne gebraucht worden ist, ist auch auf die Bedeutung dieser Benennung hier einzugehen.

Selmi¹⁾), welcher den Namen «Ptomaine» eingeführt hat, verstand darunter diejenigen Substanzen, welche, bei der Fäulniss von Gewebssubstanzen gebildet, die allgemeinen Reactionen der Pflanzenalkaloide zeigen und mehr oder weniger stark wirkende Gifte sind. Die Untersuchungen Selmi's und Anderer, welche ihm auf dieses schwierige Gebiet gefolgt sind, führten indessen nicht zu einer genaueren Erforschung dieser Producte, weil dieselben allen Versuchen zur Trennung einzelner bestimmter Stoffe widerstanden.

Erst Brieger gelang es, aus den unkrystallisirbaren Extracten und den syrupartigen Producten, welche seine Vorgänger in Händen hatten, bestimmte chemische Stoffe zu isoliren und zum Theil in prächtig krystallisirte Verbindungen überzuführen. Dadurch erst sind die Ptomaine einer allgemeinen chemischen Untersuchung zugänglich geworden, welche seitdem hauptsächlich von Brieger selbst weiter gefördert worden ist.

Brieger fand, dass die von ihm aus den Fäulnissproducten isolirten Basen meist verhältnissmässig wenig giftig sind, während diese Eigenschaft den aus Culturen pathogener Bacterien isolirten «Ptomainen» wie Tetanin, Typhotoxin u. a. in hohem Maasse zukommt. Um hier zu unterscheiden, nannte Brieger diese giftigen Stoffe: «Toxine», wodurch der Begriff der Giftigkeit von den Ptomainen losgelöst wurde. Unter letzteren versteht Brieger nunmehr alle basischen Producte, welche direct oder indirect durch die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen gebildet werden, ohne Rücksicht darauf, ob diese Stoffe als Gifte anzusehen sind oder nicht.

Durch diese Definition wird der Begriff der Ptomaine in demselben Maasse unsicherer, als er weiter wird. Da die Stoffwechselproducte der Bacterien nicht generell verschieden sind von denjenigen der höheren Organismen, werden nunmehr auch manche längst bekannte Producte des Stoffwechsels von Pflanzen und Thieren den Ptomainen zugezählt. So werden z. B. das Cholin und seine Zerfallsproducte, deren Bildung auf einer Spaltung des in allen Organismen ver-

¹⁾ D. Chem. Ges., Bd. XI, S. 808.

breiteten Lecithins beruht, als Ptomaine bezeichnet. Hierzu treten nun noch die secundären Producte des Lebensthätigkeit der Mikroorganismen, welche aus zufällig vorhandenen Stoffen durch den Fäulnisprocess abgespalten oder gebildet werden, wie Methylamin, Dimethylamin etc.

Gautier¹⁾ gebraucht den Namen Ptomaine, mehr im Sinne der ursprünglichen Bedeutung desselben, für die Bezeichnung der mehr oder weniger specifischen Producte des Stoffwechsels der Bacterien, und unterscheidet von diesen die in den Geweben lebender Thiere aus dem Eiweiss gebildeten basischen Producte, als Leukomaine. Zu letzteren sind z. B. Kreatin und verwandte Stoffe zu rechnen. Manche Leukomaine sind nach Gautier starke Gifte.

Die genannten und noch andere Unsicherheiten bei der Definition der Ptomaine verlieren indessen in dem Maße an Bedeutung, als die chemische Natur der in Betracht kommenden Körper besser erkannt wird. Gänzlich ähnliche Wandlungen, wie die Ptomaine, haben bekanntlich die Alkaloide hinsichtlich ihrer Definition im Laufe der Zeiten durchgemacht.

Hinweise darauf, dass im Harn vom Menschen «Ptomaine» vorkommen, sind fast so alt als die Kenntniss von der Existenz der später so benannten Stoffe überhaupt.

Dupré und Bence Jones²⁾ gaben im Jahre 1866 an, eine alkaloidartige Substanz, welche in schwefelsaurer Lösung blaue Fluorecenz besass, unter Anderem auch im Harn gefunden zu haben.

Aber erst, seitdem bekannt wurde, dass durch die Lebensthätigkeit von Spaltpilzen giftige Producte erzeugt werden können, ist der Gedanke öfter discutirt worden, dass bei der Darmfäulnis gebildete Ptomaine zum Theil resorbirt und im Harn ausgeschieden werden. Da man aber solche Stoffe aus dem Harn nicht isoliren konnte, haben die meisten Autoren sich darauf beschränkt, durch Thierversuche die Giftigkeit von normalem und pathologischem Harn oder daraus gewonnener Extracte darzuthun.

¹⁾ Bull. Acad. méd., 1886.

²⁾ Proceed. Roy. Soc., Bd. XV, S. 73; 1866.

Nur Pouchet¹⁾ gibt an, dass er aus menschlichem Harn 2 Körper isolirt habe, welche giftig seien und die bekannten Alkaloidreactionen zeigten. Allein obwohl dieser Autor einige Eigenschaften der von ihm aus Gerbsäurefällungen des Harns isolirten Substanzen beschreibt, scheint die Existenz derselben noch wenig sichergestellt zu sein. Keiner der zahlreichen Forscher, welche seitdem mit demselben Gegenstande sich beschäftigt haben, hat die Körper Pouchet's wieder gefunden. Und die Frage, ob der Harn organische giftige Verbindungen («Ptomaine») überhaupt enthalte, ist in der Folge ebenso oft verneint als bejaht worden. Eine vor Kurzem erschienene Arbeit Stadthagen's²⁾ überhebt uns der Aufgabe, auf die vielfach sich widersprechenden Angaben über das Vorkommen von Ptomainen weiter einzugehen; wir wollen an dieser Stelle auf die Literaturzusammenstellung sowohl als auf die lichtvolle Behandlung der vorliegenden Frage durch Stadthagen selbst verweisen. Durch eine Reihe sorgfältiger Beobachtungen hat Stadthagen die Frage des «Harngiftes», wenigstens was den normalen Harn anlangt, zu einem gewissen Abschlusse gebracht. Im Einklange mit Feltz und Ritter³⁾ kommt Stadthagen zu dem Schlusse, dass specifische organische Gifte im normalen Harn nicht vorkommen, und dass dessen physiologische Wirkung ganz oder zum allergrössten Theile durch seinen Gehalt an Kalisalzen bedingt werde. An der Hand der von Brieger ausgebildeten Methoden zur Untersuchung der Ptomaine hat Stadthagen keinerlei derartige Stoffe im normalen Harn nachweisen können.

Dieser Nachweis Stadthagen's, dass Ptomaine im normalen Harn nicht zugegen sind, kommt für uns wesentlich bezüglich der Diamine in Betracht. Schon früher hat Brieger gefunden, dass diese Körper weder in normalem Harn, noch in den Fäces sich finden. Wir haben nicht unterlassen, in dieser Frage uns mit Hilfe der Benzoylchloridreaction ausserdem ein eigenes Urtheil zu verschaffen, und

¹⁾ Compt. rend., Bd. XCVII, S. 1560.

²⁾ Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XV, Heft 5 u. 6.

³⁾ Compt. rend., Bd. CII, S. 880.

die Richtigkeit der Angaben von Brieger und Stadthagen¹⁾ durch die Prüfung des Harns von 25 verschiedenen Personen durchaus bestätigt gefunden. Wir haben niemals eine Spur von Diaminen entdecken können.

Es lag nahe, das Auftreten der Diamine im Harn des Cystinpatienten mit dem Blasencatarrh, welcher längere Zeit bestanden hatte, in Zusammenhang zu bringen. Allein weder beim acuten, noch beim chronischen Blasencatarrh finden sich die Diamine im Harn.

Wir haben ferner den Harn bei Scharlach, Diphtherie, Typhus, Pneumonie, Perforations-Peritonitis, und bei ausgebreiteten Eiterungen wiederholt, mit demselben negativen Resultat wie beim normalen Harn untersucht.

Der Harn und das Blut von Hunden enthalten gleichfalls keine Diamine.

Nach Brieger's Untersuchungen werden die Diamine bei gewissen Fäulnisprocessen gebildet und ausserdem in den Culturen bestimmter Bacterien der Choleraabacillen und des Finkler-Prior'schen Vibrio's gefunden²⁾. Der eigenthümliche Geruch der Cholerastühle ist nach Brieger hauptsächlich durch die Gegenwart von Pentamethyldiamin bedingt. Obwohl der directe Nachweis dieser Base im Darm-inhalte der Cholerakranken noch nicht geliefert ist, kann man an der Richtigkeit der Annahme Brieger's bezüglich dieses Vorkommens kaum zweifeln.

Alle bisher über das Auftreten der Diamine im Harn gesammelten Erfahrungen sprechen dafür, dass das gleichzeitige Vorkommen dieser Körper mit dem Cystin im Harn kein zufälliges sei, sondern in irgend einem causalen Zusammenhang mit der Cystinurie stehe. Dieser Schluss bedurfte aber, um unanfechtbar zu werden, nothwendig der weiteren Bestätigung durch die Untersuchung des Harns von anderen Cystinpatienten. Diese Bestätigung ist doppelt erfolgt. Stadt-

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1889, No. 16.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1887, No. 44.

hagen und Brieger¹⁾ haben in 2 Fällen von Cystinurie gleichfalls Diamine gefunden. Nach einer weiteren soeben uns zu-
gehenden Mittheilung²⁾ derselben Autoren war in beiden Fällen ausschliesslich oder vorwiegend Pentamethyldiamin vorhanden.

Es ist somit als erwiesen zu erachten, dass die Ausscheidung von Diaminen ein feststehendes Symptom bei Cystinurie ist, und der weitere Schluss wird nahegelegt, dass die Cystinurie durch dieselbe Ursache erzeugt wird, welche die Diaminurie veranlasst.

Wir haben, um den merkwürdigen Zusammenhang dieser beiden Erscheinungen näher kennen zu lernen und dadurch die eigentliche Ursache der Cystinurie zu ermitteln, eine Reihe weiterer Versuche unternommen, über welche im Folgenden berichtet wird.

7. Ueber den Ort der Entstehung der Diamine im Organismus.

Nach den Untersuchungen Brieger's über die Bildung von Cadaverin und Putrescin bei der Fäulniss lag es am nächsten, in den Processen im Darm die Quelle jener Stoffe bei unserem Cystinpatienten zu suchen. Die Prüfung der Darmentleerungen desselben bestätigte diesen Schluss. Die Untersuchung der Fäces geschah nach folgendem Verfahren: Die Entleerungen von 24 Stunden wurden mit schwefelsäurehaltigem Alkohol digerirt; der Auszug wurde verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, und die filtrirte Lösung wie früher benzoylirt. Dabei wurde eine reichliche Menge eines braun gefärbten Niederschlages erzielt, welcher durch Lösen in Weingeist und Fällen mit Wasser gereinigt wurde. Die Menge der so erzielten Krystalle betrug in einem Falle 0,3805 gr., vom Schmelzpunkt 173—174°. Durch einmaliges Umkrystallisiren aus Weingeist wurde vollkommen reines Benzoyl-Tetramethyldiamin erhalten. An demselben Tage betrug die

¹⁾ Arch. pathol. Anat., Bd. 115, Heft 3.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1889, No. 16.

Ausscheidung der Diamine im Harn ungefähr 0,1 gr., welche zum grösseren Theil aus Pentamethyldiamin bestanden.

Während der letzten Beobachtungsperiode unseres Cystinpatienten im December 1888, also zu derjenigen Zeit, wo zum ersten Male die Diamine im Harn desselben nur in Spuren oder gar nicht nachweisbar waren, haben wir an 8 Tagen die Ausscheidung der Diamine in den Fäces genau ermittelt. In dieser Versuchsreihe sind die Benzoylverbindungen, welche aus den Darmentleerungen von 24 Stunden gewonnen waren, jedes Mal in die beiden Componenten zerlegt und diese einzeln bestimmt worden.

Die Ergebnisse dieser Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Datum.	Dibenzoyl-penta-methylen-diamin.	Freies Penta-methylen-diamin.	Dibenzoyl-tetra-methylen-diamin.	Freies Tetra-methylen-diamin.	Gesamtmenge der reinen Diamine.
Dec. 11.	0,0165 gr.	0,0054 gr.	1,546 gr.	0,4596 gr.	0,465 gr.
» 12.	0,0485 »	0,0159 »	1,5013 »	0,4463 »	0,4622 »
» 13.	0,0579 »	0,0190 »	1,3650 »	0,4058 »	0,4248 »
» 14.	0,1040 »	0,0342 »	1,4303 »	0,4252 »	0,4594 »
» 15.	0,2637 »	0,0867 »	1,2179 »	0,3621 »	0,4488 »
» 16.	0,0713 »	0,0234 »	1,4407 »	0,4283 »	0,4517 »
» 17.	0,0900 »	0,0296 »	1,9133 »	0,5678 »	0,5974 »
» 18.	0,0740 »	0,0243 »	1,4096 »	0,4191 »	0,4434 »

Die gewogenen Benzoylverbindungen wurden fortlaufend durch die Controle der Schmelzpunktbestimmungen geprüft.

Die vorstehenden Versuche zeigen, dass ca. $\frac{1}{2}$ gr. der beiden Diamine oder — unter Berücksichtigung der nicht zu vermeidenden Verluste — etwas mehr in den täglichen Darmentleerungen sich vorfanden.

Die relativen Mengen der beiden Diamine verhalten sich umgekehrt im Harn und in den Fäces. Im Harn betrug das Pentamethyldiamin in der Regel mehr als 60%, in den Fäces nur 10—15% der Gesamtausscheidung der Diamine. Dabei ist zu bemerken, dass während dieser letzten Beob-

achtungsreihe die Diamine im Harn mit Ausnahme von 1 Tage so gut wie ganz fehlten; an diesem Tage wurden aus dem Harn 0,091 gr. Benzoyldiamin gewonnen, welches aus fast reinem Benzoyltetramethylendiamin bestand. Wir haben uns wiederholt überzeugt (vergl. auch den Versuch S. 584), dass das Mengenverhältniss der Diamine in den Fäces ein ungefähr gleiches blieb, auch wenn die Ausscheidung des Pentamethylen-diamins im Harn ihren höchsten Werth erreichte.

Diese Wahrnehmung steht wohl im Einklange mit der von Brieger constatirten Thatsache, dass, wo die Diamine sich bilden, zuerst das Pentamethylendiamin und erst später im weiteren Verlaufe der Fäulniss das Tetramethylendiamin auftritt. In unserem Falle liefert der jedenfalls schon im Dünndarm thätige Process der Diaminbildung wahrscheinlich vorwiegend Pentamethylendiamin; man hat sich wohl vorzustellen, dass bei dem weiteren Fortschreiten des Processes im unteren Theile des Darmrohres hauptsächlich Tetramethylendiamin gebildet wird, welches aus diesem Grunde sehr unvollständig zur Resorption gelangt.

Der Nachweis der Diamine im Darm unseres Cystin-patienten erhält aber seine besondere Bedeutung erst durch den Umstand, dass diese Körper unter normalen Verhältnissen im Darm des Menschen sich nicht finden.

Brieger fand, dass die Diamine in normalen Fäces fehlen. Wir können auf Grund einer Reihe eigener Versuche die Angabe Brieger's durchaus bestätigen. Weder im Darm vom Menschen, noch in dem vom Hunde sind diese Körper nachweisbar¹⁾.

Wir haben aber auch in den Darmentleerungen bei verschiedenen Erkrankungen keine Spur dieser Körper ermitteln können.

In einem Falle bei Darmverschluss, wo nach 8 Tagen die erste Entleerung erfolgte, war dieselbe — ebenso wie der Harn — frei von Diaminen.

¹⁾ Dabei ist es bemerkenswerth, dass Brieger (D. med. Wochenschrift, 1887, S. 469) die Bildung von Putrescin beobachtete, als er Bacterien aus normalem menschlichem Koth mit Gelatine zusammenbrachte.

Bei der Untersuchung von Typhusstühlen, welche in verschiedenen Stadien der Erkrankung bei 5 Personen ausgeführt wurde, erhielten wir sehr geringe Mengen einer krySTALLISIRTEN Benzoylverbindung, welche aber von den früher beschriebenen Benzoylverbindungen verschieden war; dieselbe schmolz bei 140—142°. Wegen ihrer geringen Menge ist sie nicht weiter untersucht worden.

Der Darminhalt der Leiche einer Person, welche in Folge von tuberculösen Darmgeschwüren gestorben war, enthielt (18 Stunden nach dem Tode) keine Spur von Diaminen.

Das Vorkommen der Diamine in dem Darminhalt beschränkt sich somit nach den bisherigen Ermittlungen auf den von uns beobachteten Fall von Cystinurie. Dieses Resultat gewinnt ausserordentlich an Bedeutung dadurch, dass Brieger und Stadthagen in den beiden von ihnen untersuchten Fällen von Cystinurie gleichfalls Diamine in den Darmentleerungen vorfanden.

An ein zufälliges Zusammentreffen der Cystinurie und der Diamin-Bildung im Organismus ist nach Allem, was bis jetzt ermittelt worden ist, nicht mehr zu denken.

Die Diamine sind in dem von uns untersuchten Cystin-falle stets aufgefunden worden und zwar an ca. 50 Tagen, welche sich über ein Jahr vertheilen, im Harn des Cystin-patienten, an 7 Tagen fehlten sie im Harn so gut wie ganz, waren aber während dieser Zeit in der beträchtlichen Menge von ca. 0,5 gr. in den täglichen Darmentleerungen erhalten.

Ausser bei Cystinurie treten die Diamine nach den bisherigen Ermittlungen nur bei Cholera auf. Unser Cystin-patient war von dieser Krankheit nie befallen; derselbe hat vor einer Reihe von Jahren einen Typhus durchgemacht zu einer Zeit, wo seine Cystinurie wahrscheinlich noch nicht bestand. Wir halten es für sehr wohl möglich, dass die Diamine in der Folge noch bei der einen oder anderen Krankheit aufgefunden werden, glauben aber aus unseren bisherigen Erfahrungen schliessen zu dürfen, dass dieses Vorkommen / jedenfalls immer ein sehr seltenes bleiben wird.

An irgend einen anderen Zusammenhang der Cholera und der Cystinurie als den, dass bei beiden Erkrankungen die Diamine durch Bakterien gebildet werden, ist zunächst jedenfalls nicht zu denken.

Auffällig ist, dass der spermatische Geruch der Diamine bei den frischen Reisswasserstühlen von Cholera oft bemerkt worden ist, ja dass ein solcher Geruch am Athem der Kranken wiederholt wahrgenommen wurde. Wir haben nie eine Spur dieses Geruches trotz der Gegenwart erheblicher Mengen von Diaminen in den Dejectionen unseres Cystinpatienten beobachtet.

Man kann sich leicht überzeugen, dass eine Lösung von Tetramethyldiamin von 1 : 1000 noch stark nach der freien Base riecht. Eine Erklärung, weshalb im vorliegenden Falle an den Fäces dieser Geruch nicht zu bemerken war, ergibt sich einfach aus dem Umstande, dass diese Entleerungen stets schwach sauer reagierten.

Dass der Diamingeruch auch beim alkalisch reagirenden Harn nicht bemerkbar war, wird theils auf die grössere Verdünnung der Diamine in demselben, theils durch die Gegenwart anderer riechender Stoffe erklärt.

Durch die mitgetheilten Versuche ist bewiesen worden, dass die Bildung der Diamine — ohne Zweifel durch die Gegenwart von Mikroorganismen — im Darm stattfindet. Die dort resorbirten Diamine werden im Harn mehr oder weniger vollständig ausgeschieden. Um den Verlauf dieser Ausscheidung genauer zu ermitteln, haben wir Fütterungsversuche mit Diaminen begonnen, über welche später berichtet werden wird.

8. Ueber die Darmfäulniss bei Cystinurie.

Der Umstand, dass der Harn unseres Cystinpatienten stets hellgelb gefärbt war, sprach schon dafür, dass im Darm keine vermehrte Bildung der normalen Fäulnisproducte stattfand.

Die weitere Prüfung ergab, dass weder die Indoxyl-, noch die Phenolausscheidung über die Norm gesteigert, sondern eher vermindert war.

Hierfür spricht besonders auch die Bestimmung der Aetherschweifelsäuren des Harns, welche an mehreren Tagen ausgeführt wurde. Wir verdanken die folgenden Werthe Herrn B. Mester, welcher die Ausscheidung der schwefelhaltigen Verbindungen im Harn unseres Patienten eingehend studirt hat.

1. Harn vom 3. Februar 1888. Harnmenge 1310 cbcm. Spec. Gew. 1,020.

50 cbcm. Harn gaben:

0,1407 gr. BaSO_4 aus Sulfaten (A),

0,0130 » » » Aetherschweifelsäuren (B),

0,270 » » » dem Gesamtschwefel.

$\frac{A}{B} = 10,8.$ Gesamtmenge der Aetherschweifelsäure im Harn von 24 Stunden = 0,141 gr. H_2SO_4 .

2. Harn vom 21. Dec. 1887. 1150 cbcm. Spec. Gew. 1,017.

50 cbcm. Harn gaben:

0,1045 gr. BaSO_4 aus Sulfaten (A),

0,0145 » » » Aetherschweifelsäuren (B),

0,206 » » » dem Gesamtschwefel.

$\frac{A}{B} = 7,2.$ Gesamtmenge der Aetherschweifelsäure im Tagesharn = 0,140 gr. H_2SO_4 .

3. Harn vom 18. Dec. 1888. 775 cbcm. Spec. Gew. 1,016 (Reaction alkalisch).

50 cbcm. Harn gaben:

0,130 gr. BaSO_4 aus Sulfaten (A),

0,020 » » » Aetherschweifelsäuren (B),

0,288 » » » dem Geasamtschwefel.

$\frac{A}{B} = 6,05.$ Gesamtmenge der Aetherschweifelsäure im Harn von 24 Stunden = 0,130 gr. H_2SO_4 .

Die Aetherschweifelsäureausscheidung beträgt bei erwachsenen Menschen im Durchschnitt einer grösseren Reihe von Beobachtungen 0,2787 gr. H_2SO_4 bei Schwankungen von 0,094 bis 0,6175 gr. (R. v. d. Velden, Virchow's Archiv, Bd. 70, S. 343 ff.)

Dass der Quotient $\frac{A}{B}$ hier nicht die gewöhnliche Bedeutung besitzt, weil im Cystinharn die Ausscheidung der Schwefel-

säure erheblich vermindert ist¹⁾), braucht kaum besonders hervorgehoben zu werden. Dennoch ist dieses Verhältniss von der Norm kaum abweichend gefunden worden.

Die Versuche zeigen also, dass die Diamine im Darm des Cystinpatienten bildenden Mikroorganismen nicht gleichzeitig die normal dort verlaufenden Fäulnissprocesse vermehren, und dass die Intensität der letzteren im vorliegenden Falle geringer als unter normalen Verhältnissen war.

9. Ueber die Bedingungen der Diamin-Bildung.

Unsere hierauf bezüglichen Untersuchungen sind noch nicht zu einem Abschlusse gelangt und können deshalb keinen Anspruch auf Vollständigkeit machen.

Aus den zahlreichen Beobachtungen Brieger's über das Auftreten der Diamine geht sicher hervor, dass diese Substanzen nur in Flüssigkeiten, in welchen gewisse Mikroorganismen sich entwickelten, gebildet werden, und dass die letzteren bei der Diaminbildung betheiligt sind.

Wir haben uns überzeugt, dass aus Pepton und Eiweiss bei der Destillation mit Aetzkali keine Spur dieser Stoffe gebildet wird, ebenso wenig entstehen Diamine bei der Zersetzung von Eiweiss durch Säuren.

Bis jetzt ist nur ein Stoffwechselproduct bekannt, welches seiner Zusammensetzung nach in naher Beziehung zu einem Diamin steht, das bei der Spaltung der Ornithursäure von Jaffé²⁾ gewonnene Ornithin $C_5H_{12}N_2O_2$. Dieser Körper besitzt, wie Jaffé gezeigt hat, die Zusammensetzung einer Diamidovaleriansäure. Durch Abspaltung von Kohlensäure könnte dieser Körper ein Diamin von der Zusammensetzung des Tetramethyldiamins liefern. Der Eine von uns (v. Udránszky) hat, um diese Frage zu entscheiden, eine Quantität Ornithursäure dargestellt und wird demnächst über die bei der Spal-

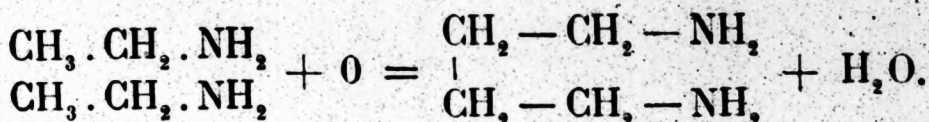
¹⁾ E. Goldmann, diese Zeitschrift. Bd. IX, S. 267; Stadthagen. Virchow's Arch., Bd. 100, S. 435.

²⁾ Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. X, S. 1925, Bd. XI, S. 406.

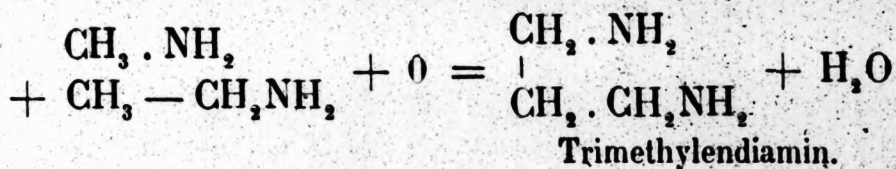
tung des Ornithins erzielten Resultate an anderer Stelle berichten.

Brieger hat festgestellt, dass die Diamine bei der Fäulniss nur unter bestimmten Bedingungen entstehen. Wir haben die Beobachtungen Brieger's auch nach dieser Richtung durch eigene Versuche bestätigen können. Fauler Käse, alte Häringslake, brauner Leberthran¹⁾ und eben in Fäulniss übergegangener Caviar wurden mit negativem Ergebniss auf Diamine geprüft.

Brieger²⁾ und Bocklisch³⁾ geben übereinstimmend an, dass die Diamine in gefaulten Flüssigkeiten erst nach längerer Zeit auftreten. Da in solchen Massen stets Methylamin und Aethylamin sich finden, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die Diamine durch einen unter gewissen Bedingungen verlaufenden Oxydationsprocess aus den Monaminen entstehen:



Auch Trimethylendiamin und Pentamethylendiamin könnten auf ähnliche Weise gebildet werden:



Für die Prüfung dieser Hypothese ist jedenfalls zunächst der Nachweis erforderlich, dass eine solche Oxydation überhaupt möglich ist. Wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

Sehr viel rascher als in faulenden Flüssigkeiten, erfolgt die Bildung der Diamine in Culturen von Cholera-bacillus. Brieger hat in diesen das Auftreten von Penta-

¹⁾ In diesem Producte sind neuerdings verschiedene basische Producte von Gautier nachgewiesen worden, welche ihre Entstehung wahrscheinlich einem Fäulnissprocesse verdanken.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1887, No. 44.

³⁾ D. Chem. Ges., Bd. XX, S. 1441.

methyldiamin in sehr erheblicher Menge schon nach 24 Stunden beobachtet, und die Annahme Brieger's, dass die Diamine in diesem Falle wirkliche Stoffwechselproducte der Cholerabacillen darstellen, ist ohne Zweifel wohl berechtigt.

Da die Bedingungen der Fäulniss im Darm des lebenden Menschen gleichmässiger sind, als wir sie ausserhalb des Körpers herstellen können, so ist die Möglichkeit ausgeschlossen, dass zufällige Umstände die Bildung der Diamine im Darm veranlassen. Es ist vielmehr ausserordentlich wahrscheinlich, dass Mikroorganismen besonderer Art als Producte ihres eigenen Stoffwechsels Diamine im Darmrohr auch bei den Cystinpatienten produciren. Und unsere bisherigen Beobachtungen, welche in der Hauptsache durch die übereinstimmenden Wahrnehmungen von Brieger und Stadthagen gestützt und bestätigt werden, legen wohl den Schluss nahe, dass die Cystin- und Diaminurie eine Infectiouskrankheit sei.

Ist dieser Schluss richtig, so muss die Cystinurie mit ihren Begleitungen übertragbar sein.

Mehrere Versuche, welche hierüber angestellt wurden, haben bis jetzt kein positives Resultat ergeben, was bei den hierbei zu überwindenden Schwierigkeiten freilich noch nicht gegen die obige Annahme spricht.

Ueber die mit den Culturen aus dem Darminhalte des Cystinpatienten angestellten Versuche, welche noch nicht abgeschlossen sind, soll später berichtet werden.

Wir wollen schliesslich noch einige Punkte hervorheben, welche ein besonderes Interesse in Anspruch nehmen:

Wenn die Diaminbildung, wie es durchaus wahrscheinlich ist, im Darm des Cystinpatienten durch specifische Mikroorganismen bedingt ist, so haben unsere Untersuchungen den Nachweis erbracht, dass bestimmte Bacterien, wenn sie einmal in den Darm gelangt sind, dort lange Zeit — wenigstens 1 Jahr, vielleicht viel länger — sich mit den besonderen Eigenthümlichkeiten ihres Stoffwechsels erhalten können.

Von denjenigen pathogenen Bacterien, welche in dem Darm ihre dem Organismus verderbliche Ansiedelung bewirken, ist das Gegentheil bekannt:—Die die Cholera, den Typhus etc. in den Darm des Menschen einführenden Bacterien verschwinden aus demselben, wenn die Krankheit überstanden wird, in kurzer Zeit wieder vollständig.

Das Pentamethyldiamin ist nach den Untersuchungen von Behring¹⁾, welcher an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen experimentirte, ein — wenn auch erst in relativ grösserer Dosen tödtliches — Gift.

Scheuerlen²⁾ und Fehleisen und Grawitz³⁾ fanden, dass die genannte Base Entzündungen und Nekrose erregende Eigenschaften besitzt. Scheuerlen constatirte dieselbe Wirkung bei dem Putrescin (Tetramethyldiamin).

Auf Grund dieser und eigener Beobachtungen hat Brieger⁴⁾ einen wesentlichen Theil der Erscheinungen, welche bei Cholera auftreten, und zwar nicht blos die localen Darmreizungen, sondern auch andere prägnante Symptome dieser Erkrankung, wie die Muskelkrämpfe und die Algidität, auf die Diamine zurückgeführt, wobei er wohl mit Recht dahingestellt sein lässt, in wie weit noch andere «Toxine» bei diesen Wirkungen betheiligt sind.

Im Hinblick auf obige Beziehungen ist es wichtig, anzuführen, dass bei unserem Cystinpatienten die Entleerungen zwar stets von breiartiger Consistenz waren, dass aber niemals bestimmte Anzeichen irgend einer Art von chronischer Darmreizung auftraten.

Wenn wirklich der ursächliche Zusammenhang der Diamine mit dem Krankheitsbitde der Cholera besteht, so ist wohl anzunehmen, dass die Diamine im Darm von Cholera-kranken in noch viel grösserer Menge auftreten als bei der Cystinurie. Bezüglich der localen Wirkung der Diamine im

¹⁾ D. med. Wochenschrift, Bd. XIV, No. 24, 1888.

²⁾ Jahresber. Thierchem., 1887, S. 491.

³⁾ Virchow's Arch., Bd. CX, S. 1.

⁴⁾ Berl. klin. Wochenschrift, 1887, No. 44.

Darm kann wohl ein wesentlicher Unterschied dadurch bedingt werden, dass in unserem Falle die Diamine im Darm in Form von Salzen sich fanden, während der Geruch der Cholera-entleerung darauf hinweist, dass in diesem Falle die freien Basen auftreten, welche stark ätzend wirken.

Bevor man aber in diesen Fragen ein bestimmtes Urtheil abgeben kann, ist es wichtig, zu ermitteln, wie gross die Menge der Diamine in den Cholera-Stühlen ist, und welche Dosen dieser Stoffe beim Menschen Vergiftungserscheinungen hervorrufen können.

Die vorstehenden Untersuchungen führen, wie wir schon früher bemerkt haben¹⁾, zu einer völligen Aenderung der Auffassung der Cystinurie, sie geben aber noch keinen Aufschluss darüber, in welcher Weise die Cystinurie mit den Mikroorganismen, welche als Ursache der Diaminbildung anzusehen sind, zusammenhängt. Wir haben uns durch besondere Versuche davon überzeugt, dass im Darm, wo die Diaminbildung erfolgt, Cystin sich nicht vorfindet, eine gleichzeitige Production beider somit nicht stattfindet.

Gelingt es, diese Beziehungen genügend zu ermitteln, so werden daraus auch für die Behandlung der Krankheit selbst ganz bestimmte Schlüsse zu ziehen sein. Nachdem ein Weg hierzu aufgefunden worden ist, darf man wohl hoffen, dass er auch zum Ziele führen wird.

Freiburg i. B., April 1889.

¹⁾ D. Chem. Ges., Bd. XXI, S. 2749.