

Der Nachweis toxischer Basen im Harn.

Von

Kutscher und Lohmann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. März 1906.)

In letzter Zeit haben sich aus Liebigs Fleischextrakt eine Reihe organischer Basen darstellen lassen,¹⁾ die unser Interesse schon deshalb verdienen, weil sie zum Teil heftige Gifte sind, wie das Methylguanidin, Muskarin und andere, über die der eine von uns demnächst berichten wird. Denn sie sind es wahrscheinlich, auf welche sich einige bisher unerklärbare Wirkungen des genannten Fleischextraktes zurückführen lassen. Diesen Bestandteilen müssen wir auch das Novain und Oblitin zuzählen. Dieselben sind allerdings nicht so wirksam wie das Methylguanidin usw., vermögen aber doch namentlich nach subkutaner Injektion bei Mäusen und Katzen schwere Krankheitserscheinungen hervorzurufen und die Tiere zu töten. Von den beiden letztgenannten Basen haben wir besonders das Verhalten des Oblitins, das sich aus Liebigs Fleischextrakt in größerer Menge darstellen ließ, geprüft. Dabei zeigte sich, daß es im Organismus der Katze eine auffallende Veränderung erfuhr. Brachte man es Katzen subkutan bei, so erschien im Harn reichlich Novain, aber kein Oblitin; verfütterte man es an Katzen, dann ließ sich unverändertes Oblitin im Harn nachweisen, im Kot hingegen erschien Novain. Wir werden in einer späteren Arbeit hierauf ausführlich eingehen.

Diese Beobachtungen veranlaßten uns, zunächst den nach Verfütterung von Liebigs Fleischextrakt gelassenen Harn und

¹⁾ Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. X, S. 528, und Zentralblatt f. Physiologie, Bd. XIX, Heft 15.

im Anschluß daran normalen Harn auf die ausgeschiedenen Harnbasen näher zu untersuchen. Leider eignen sich zu derartigen Versuchen Katzen nicht gut, da sie gegen Liebigs Fleischextrakt wenig tolerant zu sein scheinen, denn bereits 10 g Fleischextrakt, die wir ihnen mit der Schlundsonde eingaben, konnten bei diesen Tieren heftiges Erbrechen und blutigen Durchfall erzeugen. Hunde vertragen Liebigs Fleischextrakt besser. Deshalb benutzten wir einen Terrier von 7150 g Gewicht. Wir verfütterten täglich an ihn 20 g Fleischextrakt, die wir ihm auf Brot gestrichen reichten. Auffälligerweise nahm dieses Tier freiwillig niemals mehr als 20 g Fleischextrakt zu sich, während es trockenes Brot noch gierig fraß. Wasser bekam der Hund während des Versuches nach Belieben. Wir verfütterten an ihn 140 g Fleischextrakt. Das Extrakt war aus einer hiesigen Handlung (Estor) bezogen worden, das Streifenband, das die Büchse abschloß, war unversehrt.

Die Verarbeitung des Harns geschah in folgender Weise. Die einzelnen Harnportionen wurden, um die Bestandteile der Nubekula möglichst zu entfernen, durch ein mit Kieselgur bedecktes Filter gesaugt, mit Schwefelsäure angesäuert, vereinigt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Phosphorwolframfällung wurde abfiltriert, mit Schwefelsäure gewaschen und daraus nach bekannter Methode durch Behandlung mit Baryt, Kohlensäure usw. die kohlen-sauren Basen gewonnen. Die Lösung derselben säuerten wir mit Salpetersäure schwach an, schieden durch Zugabe von Silbernitrat zunächst die Alloxur-basen ab, filtrierten, fällten im Filtrat durch Silbernitrat und Barytwasser das Kreatinin aus.¹⁾ Die Silberverbindung des Kreatinins saugten wir ebenfalls ab, beseitigten im neuen Filtrat das Silber durch Salzsäure, den Baryt durch Schwefelsäure und fällten die bisher nicht ab-geschiedenen Basen wieder durch Phosphorwolframsäure aus. Aus der Phosphorwolframfällung erzeugten wir die freien Basen. Dieselben wurden mit Salzsäure stark angesäuert, zum Sirup eingeengt und mit absolutem Alkohol aufgenommen. Ungelöst blieb dabei hauptsächlich Kaliumchlorid.

¹⁾ Siehe Zeitschrift f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. X, S. 528.

Die alkoholische Lösung wurde abgedampft, wieder mit Alkohol aufgenommen und mit alkoholischer Platinchloridlösung ausgefällt. Die Platinfällung wurde abgesaugt, mit Alkohol gewaschen, in heißem Wasser gelöst,¹⁾ mit Tierkohle entfärbt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das zum Sirup eingeengte Filtrat vom Platinsulfid fällten wir mit 30%iger wässriger Goldchloridlösung. Die Fällung schied sich zunächst ölig ab, krystallisierte aber bald. Nach der Umkrystallisation wurde ein in kurzen, vierseitigen Säulen krystallisierendes Goldsalz erhalten, dessen Goldwert sich durch weitere Umkrystallisation nicht ändern ließ und das sich durch die Analyse und den biologischen Versuch als Novaingoldchlorid erwies. Nur durch den tiefer gelegenen Schmelzpunkt wich es von dem aus Fleischextrakt direkt dargestellten Novaingoldchlorid ab. Diese Abweichung war wohl durch eine geringe Verunreinigung bedingt, die sich nur schwer beseitigen ließ. Die Ausbeute an analysenreiner Substanz betrug 0,8 g.

0,1202 g Substanz	gaben	0,0483 g Au
0,1038 >	>	0,0420 >
0,1425 >	>	0,0887 > CO ₂ und 0,0401 g H ₂ O
0,1308 >	>	3,5 ccm N; T. = 13°; Ba. = 747 mm.

Für C₇H₁₇NO₂ · HCl · AuCl₃

Berechnet:	Gefunden:
C = 17,2%	C = 17,0%
H = 3,7%	H = 3,2%
N = 2,9%	N = 3,1%
Au = 40,5%	Au = 40,2, 40,5%

0,13 g der Goldverbindung führten wir in das Chlorid über und injizierten es einer 24 g schweren Maus subkutan. Das Tier erkrankte schnell unter den typischen Erscheinungen der Novainvergiftung, es ging 20 Stunden nach der Injektion ein.

Um zu entscheiden, ob schon der normale Hundeharn Novain enthält, haben wir nach Ablauf des ersten Versuches 17 l Harn des gleichen Hundes gesammelt und darauf unter-

¹⁾ Man kann die in Wasser gelöste Platinfällung vor der Zersetzung mit H₂S noch einengen, um die in Wasser schwerlöslichen Platinate zur Krystallisation zu bringen. Wir sind in der Tat so vorgegangen, erhielten aber nur etwas Ammonium- und Kaliumplatinat.

sucht. Das Tier erhielt die gewöhnliche Mischkost. Bei der Verarbeitung des Harns benutzten wir in diesem Fall ein abgekürztes Verfahren. Der mit Salzsäure angesäuerte Harn wurde nach Entfernung der auskrystallisierenden Kynurensäure mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus der mit 5%iger Schwefelsäure gewaschenen Fällung stellten wir die Basen nach bekannter Methode dar. Die freien Basen führten wir in die Chloride über und nahmen dieselben mit absolutem Alkohol auf. Die alkoholische Lösung dampften wir ab, nahmen sie wieder mit Alkohol auf und fällten mit alkoholischer Platinchloridlösung. Die Fällung lösten wir in Wasser, zersetzten sie mit Schwefelwasserstoff, dampften zum Sirup ab und fällten mit 30%iger wässriger Goldchloridlösung. Wir erhielten ein Öl, das nicht krystallisieren wollte. Da bei den Versuchen, es in heißem Wasser zu lösen, starke Reduktion eintrat, zersetzten wir die Goldverbindungen durch Schwefelwasserstoff, fällten die Chloride in alkoholischer Lösung nochmals mit alkoholischer Platinchloridlösung und führten die Platinate wie oben in die Goldverbindungen über. Jetzt krystallisierte die Goldfällung bald. Aus ihr wurden 0,65 g eines in dünnen Nadeln krystallisierenden Goldsalzes erhalten, das viel Ähnlichkeit mit dem Novaingoldchlorid besaß. Es bestand aber aus einem Gemenge, das sich wegen der geringen Ausbeute nicht weiter trennen ließ. Auffallenderweise blieb bei der Umkrystallisation der Goldwert konstant.

0,1137 g gaben 0,0459 g Au = 40,4%

0,1155 » » 0,0461 » » = 40,0% (nach Umkrystallisation)

0,1699 » » 0,0978 » CO₂ = 15,7% und 0,0455 g H₂O = 3,0%

0,1536 » » 7 ccm N; T. = 12°; Ba. = 750 mm, also N = 5,4%.

Die obigen Zahlen lassen eine Formel nicht berechnen.

Aus 0,095 g der Goldverbindung stellten wir auch hier die Chloride dar, die in feinen Nadeln krystallisierten. Wir injizierten sie einer 20 g schweren Maus subkutan. Die eingespritzten Substanzen wirkten sehr stürmisch. Es stellte sich bei dem Tiere bald beschleunigte und erschwerte Atmung, weiter Speichelfluß und Harnträufeln ein. Bereits eine Stunde nach der Injektion war das Tier tot. Novain wirkt viel langsamer.

Ziehen wir in Betracht, daß bei Fütterung von Liebigs Fleischextrakt bereits 2 l Harn 0,8 g Novaingoldchlorid lieferten, während in dem Kontrollversuch 17 l Harn nur 0,65 g eines zweifelhaften Gemenges gaben, so muß man schließen, daß, wenn überhaupt, in der Norm sich nur geringe Mengen von Novain im Organismus des Hundes bilden. Das von uns im ersten Versuch gewonnene Novain muß demnach hauptsächlich dem Fleischextrakt entstammen und zwar entweder dempräformierten Novain oder dem Oblitin nach dessen Spaltung.

Da sich Liebigs Fleischextrakt für den tierischen Organismus nicht indifferent erwies, nahmen wir davon Abstand, damit Fütterungsversuche am Menschen vorzunehmen. Wir beschränkten uns darauf, normalen menschlichen Harn zu untersuchen. Verarbeitet wurden 10 l Sammelharn, der von verschiedenen, angeblich gesunden Personen stammte. Der Harn wurde sorgfältig durch Kieselgur filtriert und nach dem eben geschilderten abgekürzten Verfahren behandelt. Die Goldfällung schied sich auch hier zunächst ölig ab, krystallisierte aber bald. Sie war nicht einheitlich, sondern bestand zum wenigsten aus 4 verschiedenen Basen, die sich durch fraktionierte Krystallisation trennen ließen.

Zunächst schied sich ein sehr schwerlösliches Goldsalz ab, das in hellgelben, glänzenden Blättchen krystallisierte. Es schmolz bei schnellem Erwärmen unter Zersetzung und lebhaftem Aufschäumen bei 248° C.¹⁾ Der Zersetzungspunkt und die Goldbestimmung zeigten, daß Neuringgoldchlorid vorlag. Die Ausbeute daran betrug 0,17 g.

0,111 g Substanz gaben 0,0516 g Au = 46,5% Au;
Neuringgoldchlorid verlangt 46,4% Au.

Das Neurin ist unseres Wissens bisher im Harn nicht nachgewiesen worden. Allerdings geben Marino-Zuco und U. Dutto an,²⁾ aus dem Harn bei Morbus Addisonii Neurin erhalten zu haben, und dieser Befund gibt ihnen Veranlassung zu einer

¹⁾ Neuringgoldchlorid aus synthetischem von Herrn Dr. Ruckert dargestellten Neurin zeigte das gleiche Verhalten.

²⁾ Moleschott, Untersuchungen zur Naturlehre usw., Bd. XIV, S. 617.

interessanten Theorie über die Entstehung der Addison'schen Krankheit, die sie als eine chronische Neurinvergiftung betrachten. In der Tat haben aber Marino-Zuco und U. Dutto, wie sich aus der Analyse des Goldsalzes ergibt (sie fanden 43,90% Au), Cholin, nicht Neurin in Händen gehabt. Man hielt früher das Cholin und Neurin nicht so scharf auseinander wie jetzt. Die Theorie von Marino-Zuco und U. Dutto ist also dahin zu modifizieren, daß der Morbus Addisonii eine chronische Cholinvergiftung ist. Mag diese Theorie nun richtig oder falsch sein, von Interesse ist zweifellos die Differenz im Verhalten des normalen und des an Addison'scher Krankheit leidenden Menschen, und es wäre zu wünschen, wenn von seiten der Kliniker aufgeklärt würde, warum der eine Neurin, der andere Cholin ausscheidet.

Die Muttersubstanz des von uns aufgefundenen Neurins ist wohl Lecithin. Schwieriger zu beantworten ist dagegen die Frage, wo sich das Neurin gebildet hat. Es kann nämlich beim intermediären Lecithinstoffwechsel in den Geweben entstanden sein, es kann sich aber auch im Darm durch Fäulnis des Lecithins gebildet haben. Schließlich kann es bereits fertig mit den Nahrungs- und Genußmitteln aufgenommen worden sein, wie es z. B. in Liebigs Fleischextrakt, wenn auch nicht ständig vorkommt. Da wir über das Verhalten des Neurins im tierischen Organismus zurzeit noch nicht unterrichtet sind, ist eine Entscheidung obiger Frage vorläufig nicht möglich.

Aus der Mutterlauge vom Neuringgoldchlorid ließ sich ein Goldsalz gewinnen, das große Ähnlichkeit mit Novaingoldchlorid zeigte. Es schied sich wie dieses aus seiner übersättigten Lösung zunächst als Öl ab, das dimorph in Blättchen und Säulen kristallisieren konnte. Zwischen 155—160° C. schmolz es ohne Zersetzung zu einer klaren, roten Flüssigkeit. Die Ausbeute betrug leider nur 0,156 g, die zu einer Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung verwandt wurden.

0,1445 g Substanz gaben 0,0937 g CO₂ und 0,0292 g H₂O.

Für C₇H₁₇NO₂ · HCl · AuCl₃

Berechnet:

C = 17,2%

H = 3,7%

Gefunden:

C = 17,7%

H = 2,3%

Vielleicht ist aber auch diese Verbindung identisch mit einer von Dombrowski¹⁾ aus dem Harn dargestellten Base, der Dombrowski die Formel $C_7H_{15}NO_2$ zugeschrieben hat. Leider hat Dombrowski nur das Platinsalz untersucht.

Die Mutterlauge dieses Körpers lieferte bei weiterem Einengen Kreatiningoldchlorid. Das Kreatinin erschwert die Darstellung der anderen Harnbasen außerordentlich. Sein Platin- und Goldsalz ist allerdings leicht löslich und man wird den größten Teil des Kreatinins schon bei der Platinfällung los. Die Verhältnisse liegen aber für die anderen Basen deshalb ungünstig, weil sie dem Kreatinin gegenüber nur in geringer Menge im Harn vorhanden sind. Daher wird sich wahrscheinlich häufig bei der Harnuntersuchung unser erstes Verfahren empfehlen, welches gestattet, die Hauptmenge des Kreatinins als Silberverbindung zu entfernen.²⁾ Außerdem scheinen auch noch andere die Krystallisation hindernde Substanzen in die Silberfällungen zu gehen. Die Ausbeute an Kreatiningoldchlorid betrug ca. 0,5 g.

Die Mutterlauge vom Kreatiningoldchlorid gab schließlich noch ein in kleinen, glänzenden, gelben, zu Drusen vereinigten Nadeln krystallisierendes Goldsalz, das in Wasser leicht löslich war. Es schmolz bei $200^\circ C$. scheinbar ohne Zersetzung zu einer klaren, roten Flüssigkeit, nachdem es vorher stark gesintert war. Die Ausbeute daran betrug 0,45 g. Der Goldwert blieb nach Umkrystallisation beständig. Leider ging die C- und H-Bestimmung verloren.

0,1220 g Substanz	gaben	0,056 g Au	=	46,6% Au
0,1027 »	»	0,048 »	=	46,7% »

Trotzdem der Goldwert gut zu Neurin paßt, lag doch sicher eine andere Base vor, wie Löslichkeit und Schmelzpunkt zeigt.

Eine Frage, die seit langer Zeit die verschiedenen Forscher interessiert hat, bezieht sich auf die Giftigkeit des Harns. Sie ist bald in negativem, bald in positivem Sinne beantwortet

¹⁾ Compt. rend., Bd. CXXXV, S. 244, Jahrg. 1902.

²⁾ Durch nochmalige Umfällung der Platinat würde man wohl ebenfalls eine Beseitigung des Kreatinins erreichen.

worden. In den seltensten Fällen ist es jedoch gelungen, gut-charakterisierte Körper aus dem Harn zu gewinnen, die giftig wirkten. Die Ursache, warum die aufgewandte Mühe den erzielten Resultaten bisher nicht entsprochen hat, ist wohl in der Unvollkommenheit der früher benutzten Methoden zu suchen. Nachdem es uns ohne besondere Schwierigkeit möglich gewesen ist, sowohl im Hunde- wie im Menschenharn das Auftreten toxischer Basen nachzuweisen, müssen wir natürlich das Erscheinen giftiger Körper im Harne bejahen, und wir hoffen, seitdem es uns noch geglückt ist, in einem so gebräuchlichen Genußmittel wie Liebigs Fleischextrakt eine Quelle derartiger Körper aufzufinden, die Lösung der Frage einen Schritt gefördert zu haben.

Ob sich unsere Methode auch zur Untersuchung pathologischer Harne eignet, wissen wir nicht, doch beschäftigen sich vielleicht gelegentlich die Kliniker damit.
