

Der Nachweis toxischer Basen im Harn.

III. Mitteilung.

Von

Kutscher und Lohmann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 23. August 1906.)

Vor kurzem haben wir in dieser Zeitschrift Methoden beschrieben,¹⁾ die ermöglichen, aus dem Harn eine Reihe organischer Basen darzustellen, denen man bisher dort entweder garnicht oder nur mit großer Schwierigkeit beizukommen vermochte. Wir haben unsere Methoden nunmehr auf ein großes Quantum normalen Menschenharn angewandt und geben im nachfolgenden die Resultate unserer bisherigen Untersuchungen.

Als Ausgangsmaterial dienten uns 100 l Frauenharn,²⁾ der von gesunden, nicht schwangeren Frauen herrührte. Herrn Geheimrat Professor Ahlfeld und Herrn Privatdozenten Dr. Rieländer, die unseren Wünschen bezüglich des Ausgangsmaterials stets bereitwillig entgegen kamen, möchten wir an dieser Stelle dafür unseren besten Dank aussprechen. Die gesamte Harnmenge saugten wir durch mit Kieselgur bedeckte Filter ab, säuerten sie mit Salzsäure stark an und fällten sie mit Phosphorwolframsäure aus. Die Phosphorwolframfällung saugten wir nach 24 Stunden ab, wuschen sie mit 5%iger Schwefel-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 1 und S. 422.

²⁾ Wir haben Frauenharn zu unseren Untersuchungen benutzt, weil Gumprecht in den Verhandl. d. Kongresses für innere Medizin (Wiesbaden 1900) gegen den Männerharn einen triftigen Einwand geltend macht. Nach ihm kann der Männerharn durch Sperma verunreinigt sein, das leicht Cholin liefert; er rät deshalb, zu Arbeiten über die Harnbasen nur Frauenharn zu verwenden. Dabei scheint er nicht bedacht zu haben, daß auch der Frauenharn durch Sperma verunreinigt sein kann, und man gezwungen ist, diesen ebenfalls auf Treu und Glauben zu verarbeiten. Wir haben aber doch, um allen Einwänden möglichst die Spitze abzubrechen, nach dem Vorschlag von Gumprecht nur Frauenharn benutzt.

säure aus und stellten daraus nach bekannten Methoden mit Hilfe von Baryt usw. die kohlsauren Basen dar. Die Lösung derselben engten wir stark ein. Nach einiger Zeit krystallisierte ein großer Teil des Kreatinins in dünnen, gelben Blättchen aus, die wir absaugten. Die Mutterlauge vom Kreatinin säuerten wir mit Salzsäure an. Dadurch ließ sich ein Teil des Harnfarbstoffes, der ja auch in die Phosphorwolframsfällung mit eingeht, in dunkelbraunen klebrigen Flocken abscheiden. Wir filtrierten davon ab, engten die Lösung der Chloride zum Sirup ein und nahmen den Rückstand mit Alkohol namentlich zur Entfernung des Kaliumchlorids auf. Die alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand von neuem mit Alkohol aufgenommen und diese Operation so oft wiederholt, bis sich der Rückstand in käuflichem absoluten Alkohol auch in der Kälte leicht löste. Die alkoholische Lösung verarbeiteten wir dann nach der von uns geschilderten, gekürzten Methode.

Zu diesem Zwecke fällten wir sie mit 20%iger alkoholischer Platinchloridlösung vollkommen aus. Wir wollen die Fällung als «Platinfällung I» bezeichnen. Nach 48 Stunden filtrierten wir von dem reichlichen Niederschlage ab, wuschen ihn mehrmals mit kaltem, absolutem Alkohol aus und lösten ihn in heißem Wasser. Ein kleiner Teil der Platinate blieb unlöslich zurück. Wir zersetzten die in Wasser unlöslichen Platinate mit Schwefelwasserstoff. Dabei zeigte sich, daß sie hauptsächlich aus Verbindungen des Platins mit Harnfarbstoff bestanden hatten. Sie enthielten aber auch eine organische Base, die uns bisher jedoch nicht zugänglich gewesen ist.

Die in Wasser löslichen Platinate zersetzten wir mit Schwefelwasserstoff. Die Lösung der so erhaltenen Chloride gab nur schwache Kreatininreaktion. Wir entfärbten dieselbe mit Tierkohle, engten sie zum Sirup ein, nahmen denselben mit absolutem Alkohol auf und fällten ihn nochmals mit alkoholischer Platinchloridlösung. Dabei blieb jetzt, wie sich später zeigte, ein nicht unbeträchtlicher Teil der Basen, die sich zuerst durch Platin hatten niederschlagen lassen, in Lösung. Diese namentlich zur vollständigen Beseitigung des Kreatinins ange-

wandte zweite Fällung mit Platinchlorid wollen wir als «Platinfällung II», das Filtrat davon als «Filtrat der Platinfällung II» bezeichnen.

Verarbeitung der Platinfällung II.

Nach 48 Stunden filtrierten wir von der erhaltenen Platinfällung ab, wuschen dieselbe mehrfach mit absolutem Alkohol, nahmen sie in heißem Wasser auf und zersetzten sie mit Schwefelwasserstoff. Die Lösung der so erhaltenen Chloride dampften wir auf dem Wasserbade zum dünnen Sirup ein, den wir mit 30%iger wässriger Goldchloridlösung vollkommen ausfällten. Das Ganze ließen wir einige Tage leicht bedeckt stehen, dadurch schieden sich alle Goldverbindungen, auch die leichter löslichen, fast vollkommen ab, denn es gelang uns nicht, aus der Mutterlauge durch vorsichtiges Einengen noch nennenswerte Mengen von Goldverbindungen zu erhalten. Die reichlich ausgefallenen Goldverbindungen saugten wir scharf ab, vermieden aber das Nachwaschen mit Wasser, lösten sie in siedendem Wasser, filtrierten und engten sie bei einer 70° C. nicht übersteigenden Temperatur auf ein Volumen von 100 ccm ein.¹⁾ Schon in der Wärme schieden sich aus der Flüssigkeit reichlich glänzende, kräftige Nadeln ab. Wir ließen das Ganze einige Tage leicht bedeckt stehen, dann saugten wir die auskrystallisierten Goldverbindungen ab. Das Filtrat davon mußte die in Wasser leichter löslichen Aurate enthalten. Die schwerer löslichen Aurate bestanden der Hauptsache nach aus zwei verschiedenen Goldverbindungen, von denen die eine auch bei einer Temperatur von 70° C. in Wasser schwer löslich ist, während die andere wohl in kaltem Wasser schwer löslich, dagegen in heißem leicht löslich ist. Das verschiedene Verhalten der beiden Verbindungen ermöglichte eine leichte Trennung.

Zu diesem Zweck wurden sie nochmals in siedendem Wasser gelöst. Wir dampften die Lösung bei 70° C. auf ca. 150 ccm ein. Dabei schied sich fast quantitativ das eine Goldsalz in kurzen, durchsichtigen, hellgelben Nadeln ab. Ohne die

¹⁾ Es ist nicht ratsam, 70° C. beim Abdampfen der Lösung der Goldsalze zu überschreiten, da sonst meist starke Reduktion und Abscheidung von metallischem Gold eintritt.

Mutterlauge abkühlen zu lassen, saugten wir die Krystalle ab. Die Ausbeute daran betrug nach zweimaliger Umkrystallisation 2,6 g. Wir hatten diese aus dem Harn leicht und, wie die obige Zahl zeigt, in nicht unbeträchtlicher Menge zu gewinnende Substanz bereits früher in Händen gehabt und sie damals als Neuringgoldchlorid¹⁾ angesprochen. Die vollständige Analyse des besser gereinigten Körpers bereitete uns eine merkwürdige Überraschung, denn dieselbe stimmte gut zum Aurat des Pyridinmethylchlorids, dem sich auch der Schmelzpunkt unserer Verbindung nähert. Wir fanden folgende Analysenzahlen:

0,1204 g Substanz gaben	0,0548 g Au
0,1137	0,0521
0,1946	0,1203 g CO ₂ und 0,0385 g H ₂ O
0,1554	5,0 ccm N; T. = 17°; Ba. = 745 mm

Für C₅H₅N · CH₃Cl · AuCl₃

Berechnet:	Gefunden:
C = 16,6%	C = 16,9%
H = 1,9%	H = 2,2%
N = 3,3%	N = 3,7%
Au = 45,5%	Au = 45,5; 45,9%

Im Schmelzröhrchen färbte sich das Aurat bei 170° dunkel, bei 210° hellte sich der Farbenton wieder auf, schließlich schmolz es bei 242—245° C.²⁾ zu einer klaren, roten Flüssigkeit, die beim Erkalten zu einer gelbroten Krystallmasse erstarrte. Nachdem wir die Reste des Aurates, das uns von unserem früheren Versuch übrig geblieben war, nochmals umkrystallisiert hatten, verhielt es sich wie das zweite Präparat. Danach dürfen wir wohl schließen, daß wir auch bei unserem ersten Versuch die gleiche Verbindung dargestellt hatten. Die irrige Annahme, wir hätten Neuringgoldchlorid in Händen, wird durch die nahe beieinander liegenden Goldwerte und Schmelzpunkte der beiden Verbindungen zur Genüge erklärt.³⁾ Wir werden über die obige

¹⁾ l. c. S. 5.

²⁾ Das Aurat des Pyridinmethylchlorids schmilzt nach Ostermayer bei 252° C.

³⁾ Gelegentlich anderer Untersuchungen habe ich einer Katze 0,1 g Neurinchlorid einverleibt. Den Harn des Tieres habe ich mit unseren Methoden auf Neurin untersucht, ihn aber auch frei von Neurin gefunden. Dagegen konnte ich daraus das Goldsalz einer anderen Base darstellen. K.

Verbindung nach ihrer endgültigen Identifizierung noch näher berichten.

Aus der Mutterlauge des eben geschilderten Aurates schied sich beim langsamen Eindunsten in kräftigen, vierseitigen, rotgelben Säulen das zweite, in kaltem Wasser schwerlösliche Aurat ab, das nach dreimaliger Umkrystallisation aus wenig heißem Wasser rein war. Es fiel bei schnellem Abkühlen seiner Lösung sofort krystallinisch in dünnen, hellgelben Nadelchen aus. Dieselben schmolzen bei 180° C. zu einer trüben Masse zusammen, die erst zwischen 205 — 210° C. in eine klare dunkelrote Flüssigkeit übergeht. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,1110 g Substanz gaben	0,0427 g Au (3 Umkrystallisation)
0,1066 " " "	0,0407 " " (4 " ")
0,1021 " " "	0,0393 " " (5 " ")
0,1521 " " "	0,1260 " CO_2 und 0,0304 g H_2O
0,1525 " " "	5,2 ccm N; $T_s = 17^{\circ}$; Ba. = 745 mm
0,1034 " " "	3,8 " " ; " = 18° ; " = 741 "

Daraus berechnet sich die Formel $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{AuCl}_3$

Für $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{AuCl}_3$

Berechnet:	Gefunden:
Au = 38,6%	Au = 38,5; 38,2; 38,5%
C = 22,3%	C = 22,6%
H = 2,5%	H = 2,2%
N = 4,1%	N = 3,9; 4,2%

Wir bezeichnen die Base $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$, deren Goldsalz wir zuerst aus Frauenharn dargestellt haben, als «Gynestin». Durch ihr Verhalten gegen Goldchlorid ist sie als zweisäurige Base charakterisiert. Die Ausbeute betrug 1,5 g.

Die leichter löslichen Goldverbindungen schieden sich aus der Mutterlauge der oben geschilderten Körper nach starkem Einengen als Öl ab, das auf Zugabe einiger Kryställchen von Novaingoldchlorid zu krystallisieren begann. Es ließen sich daraus aber bisher nicht analysenreine Präparate gewinnen.

Filtrat der Platinfällung II.

Wir haben oben erwähnt, daß nicht alle Basen, die sich zuerst durch Platinchlorid hatten niederschlagen lassen, auch in «Platinfällung II» eingingen. Um dieselben wiederzugewinnen,

engten wir das alkoholische Filtrat von Platinfällung II stark ein. Dadurch ließ sich der kleinere Teil der in Lösung gebliebenen Platinate krystallinisch abscheiden. Die Hauptmasse verblieb aber in der Mutterlauge. Aus dieser verjagten wir den Alkohol vollständig, zersetzten die mit Wasser aufgenommenen Platinate mit Schwefelwasserstoff, dampften die erhaltenen Chloride auf dem Wasserbade zum dicken Sirup ein und nahmen ihn mit absolutem Alkohol auf. Wir erhielten jetzt auf erneute Zugabe von 20%iger alkoholischer Platinchloridlösung eine reichliche Fällung, die wir absaugten und mit den beim Einengen ausgeschiedenen Platinaten vereinigten. Wir führten die gesamten so gewonnenen Platinate durch H_2S in die Chloride über, engten ihre Lösung zum Sirup ein und fällten mit 30%iger wässriger Goldchloridlösung. Die Goldverbindungen schieden sich als Öl ab, das nicht krystallisieren wollte, wir vereinigten es deshalb nach einiger Zeit mit den öligen Goldverbindungen, die sich aus den Mutterlaugen des Pyridinmethylechlorids und des Gynesins abgeschieden hatten.

Die Platinate, die sich auch durch diese dritte Umfällung nicht wieder niederschlagen ließen, führten wir durch Schwefelwasserstoff in die Chloride über, engten deren wässrige Lösung zum Sirup ein, den wir ebenfalls mit 30%iger wässriger Goldchloridlösung versetzten. Es entstand ein reichlicher, öliger Niederschlag, der schnell krystallinisch wurde. Nach einmaliger Umkrystallisation war die ausgefallene Verbindung rein, sie war das Aurat des Methylguanidins.

Von Achelis ist am hiesigen Institute bereits nach anderer Methode das Methylguanidin als ständiger Bestandteil des menschlichen Harns nachgewiesen worden. Unser Befund bildet eine Bestätigung der Angaben von Achelis. Das Aurat des Methylguanidins gab bei der Analyse folgende Werte:

0,1467 g Substanz gaben 0,0308 g CO_2 und 0,0312 g H_2O	} Die C- und H-Bestimmungen sind von Herrn Dr. Ackermann ausgeführt.
0,1480 g Substanz gaben 0,0315 g CO_2 und 0,0289 g H_2O	
0,1789 g Substanz gaben 15,7 ccm N; T. = 17° C.; Ba. = 740 mm	
0,1501 g Substanz gaben 0,0719 g Au	

Für $C_2H_7N_3 \cdot HCl \cdot AuCl_3$

Berechnet:	Gefunden:
C = 5,8%	C = 5,7; 5,8%
H = 2,0%	H = 2,4; 2,2%
N = 10,2%	N = 10,1%
Au = 47,7%	Au = 47,9%

Die Ausbeute an Methylguanidingoldchlorid hatte 4,0 g betragen.¹⁾

Im Anschluß an diese Beobachtung haben wir den nach Fütterung von Liebigs Fleischextrakt entleerten Hundeharn genauer daraufhin untersucht, ob derselbe ebenfalls Methylguanidin neben Dimethylguanidin enthält. Zu diesem Zweck haben wir an 2 Hunde im ganzen 450 g Liebigs Fleischextrakt in der früher geschilderten Weise verfüttert. Die während des Versuches entleerte Harnmenge betrug 6250 ccm, die nach bekannter Methode²⁾ auf die Pikrolonate verarbeitet wurde. Es wurden 1,83 g an Pikrolonaten gewonnen, die sich bei der Analyse als ein Gemenge von Methyl- und Dimethylguanidin-pikrolonat erwiesen.

0,1786 g Substanz gaben 0,2846 g CO_2 und 0,071 g H_2O

0,1784 „ „ „ 0,2830 „ „ „ 0,0744 „ „

0,1872 „ „ „ 47 ccm N; T. = 18°; Ba. = 734 mm

Für $C_2H_7N_3 \cdot C_{10}H_8N_4O_5$

Für $C_3H_9N_3 \cdot C_{10}H_8N_4O_5$

Berechnet:

Berechnet:

Gefunden:

C = 42,7%

C = 44,7%

C = 43,4; 43,3%

H = 4,5%

H = 4,7%

H = 4,5; 4,7%

N = 29,1%

N = 28,0%

N = 28,5%

Es liegt natürlich sehr nahe, das im Harn austretende Methyl- und Dimethylguanidin mit dem Kreatinin in Verbindung zu bringen. Ob diese beiden Basen als Vorstufen oder Abbauprodukte des Kreatinins zu betrachten sind, darüber wird demnächst von Herrn Dr. Achelis in dieser Zeitschrift berichtet werden.

¹⁾ Das nicht ganz reine Aurat des Methylguanidins ist wahrscheinlich die letzte Goldverbindung (l. c. S. 7), die wir in unserem ersten Versuch aus Menschenharn gewannen. Sie schmolz bei 200° C. und gab 46,7% Au. Methylguanidingoldchlorid schmilzt bei 198° und verlangt 47,7% Au.

²⁾ l. c. S. 422.