

# Über das Verhalten des Urobilins im Kaninchenorganismus.

Von

Dr. G. Fromholdt, Ordinator der Fakultätsklinik in Moskau.

---

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Institutes der Universität zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 13. August 1907.)

---

Das Wesen und die Bedeutung der Urobilinurie sind bisher fast ausschließlich klinisch studiert worden. Es sind besonders zwei Hindernisse, welche sich der experimentellen Forschung auf diesem Gebiete in den Weg stellen: Einerseits existiert nämlich keine einfache und bequeme Methode zur Reingewinnung größerer Quantitäten von Urobilin, andererseits verhalten sich die meistens zum Experiment benutzten Tiere, Kaninchen und Hund, in bezug auf das Auftreten von Urobilin im Harn anders als der Mensch.<sup>1)</sup> Während das Urobilin nach Jaffe ein regelmäßiger normaler Bestandteil eines jeden 24stündigen Menschenharns ist, nach andern Angaben nur selten fehlt, ist es nicht bekannt geworden, daß das Urobilin unter irgend welchen Bedingungen in Kaninchenharn in irgend erheblicher Menge aufgetreten sei. Auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Salkowski, dem ich hiermit meinen aufrichtigen Dank aussprechen möchte, bin ich daran gegangen, mich von dieser Tatsache zu überzeugen und einige Versuche über das Verhalten von eingeführtem Urobilin am Kaninchen anzustellen.

Der Harn sämtlicher, hauptsächlich mit Mohrrüben (Karotten) gefütterten Kaninchen, erwies sich nach verschiedenen Methoden (Fällen mit Bleisubacetat nach Jaffe,<sup>2)</sup> Ausfällen mit  $Zn + NH_3$ , Extraktion mit Äther, Chloroform oder Amylalkohol) geprüft, frei von Urobilin. Da die einzige jetzt experimen-

---

<sup>1)</sup> Jaffe, Virchows Archiv, Bd. XLVII, S. 425.

Beck, Wiener klin. Wochenschr., 1895, Nr. 35.

<sup>2)</sup> Virchows Archiv, Bd. XLVII, S. 418.

tell begründete Theorie die Entstehung des Urobilins in den Darm verlegt, so war es notwendig, zu sehen, ob im Darmlumen oder den Faeces von Kaninchen Urobilin sich auffinden läßt. Schmidt,<sup>1)</sup> welcher den Darm auf Urobilin mit seiner Methode (Rosafärbung bei Behandlung mit Quecksilberchloridlösung) untersuchte, fand bei Kaninchen wenig oder gar kein Urobilin. Ich untersuchte nur frische Kaninchenfaeces. Die Faeces wurden mit saurem (HCl) Alkohol verrieben, der Auszug nach einigem Stehen filtriert, etwas eingedampft und auf Urobilin untersucht.<sup>2)</sup> Der alkoholische Auszug sah goldgelb aus, zeigte alle für Gallenfarbstoff charakteristische Reaktionen, wurde beim Stehen grün und trübe und erwies sich frei von Urobilin. Nach alledem hätten wir im Kaninchen ein Tier, in dessen Harn ein spontanes Auftreten von Urobilin überhaupt nicht zu erwarten wäre. Umso günstigere Verhältnisse lagen also vor zur Erforschung des Schicksals von eingeführtem Urobilin.

Zur Darstellung des für die folgenden Versuche verwendeten Urobilins<sup>3)</sup> dienten menschliche Faeces. Dieselben wurden mit Alkohol verrieben und ca. 10 Stunden stehen gelassen. Darauf wurde der Auszug filtriert, auf dem Dampfbade etwas von Alkohol befreit und dann wiederholt mit größeren Quantitäten Petroläther geschüttelt, solange bis sich der Äther noch merklich färbte. Dabei gehen außer verschiedenen Farbstoffen noch Fett, Indol und Skatol<sup>4)</sup> in den Petroläther über, während das Urobilin im wässrigen Extrakt zurückbleibt. (Will man das wiederholte Schütteln vermeiden, so kann man auch einen Extraktionsapparat dazu benutzen; angewendet wurde der von Zelmanowitz beschriebene. Bioch. Zeitschr. Bd. I, S. 253 (1906). Nachdem der Auszug so behandelt worden ist, sieht er braun aus und besitzt nur einen schwach faecalen Geruch. Er kann nun zur Darstellung von Urobilin ebenso behandelt werden wie

<sup>1)</sup> Verhandl. d. Kongr. f. Inn. Med., 1895.

<sup>2)</sup> Vgl. Salkowski, Arbeiten aus d. Path. Inst. Berlin, 1906, S. 12.

<sup>3)</sup> Das sogen. Sterkobilin (Vanlair und Masius) ist nach Jaffe mit Urobilin identisch (Zentralbl. f. d. m. W., 1871, S. 465).

<sup>4)</sup> Kimura, Empfehlung von Ligroin zur Entfernung von Indol und Skatol, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. LXXIX.

es Jaffe für urobilinreichen Harn beschrieben hat — also: Fällen mit  $\text{ZnCl}_2 + \text{NH}_3$ , Auskochen des Niederschlages mit Alkohol, Trocknen bei gelinder Wärme, Lösen in  $\text{NH}_3$ , Fällen mit Bleizucker, Digerieren des Niederschlages mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, Filtrieren, Ausschütteln des Filtrates mit Chloroform, Waschen des Chloroformauszuges durch Schütteln mit Wasser, Abtrennung, Filtrieren durch ein nicht angefeuchtetes Filter, Verdunsten auf dem Dampfbade.

Um diese lange Reihe von Prozeduren abzukürzen, bin ich meistens beim Auskochen des Zn-Niederschlags in Alkohol stehen geblieben, löste den Niederschlag dann in HCl- oder essigsäurehaltigem Alkohol auf und schüttelte mit Chloroform unter Wasserzusatz aus. Nachdem das Chloroform zweimal gewaschen, und durch ein trockenes Filter filtriert, wurde es auf dem Wasserbade abdestilliert. Das so erhaltene Urobilin zeigte die typischen Eigenschaften: es gab den typischen Absorptionsstreifen in saurer Lösung, fluorescierte in alkoholischer Lösung (wobei die Fluorescenz beim Erwärmen verschwand und beim Erkalten wiederkehrte — SAILLET<sup>1)</sup>) und wurde blaßgelb beim Alkalisieren. Dennoch war das gewonnene Produkt in einigen Eigenschaften abweichend von dem, was Jaffe angegeben hat. So ging die beim Alkalisieren entstandene gelbe Farbe in  $1/2$ —1 Stunde in ein schönes Rosa über und im Spektrum war jetzt der typische enge Streifen des «metallischen» Urobilins zu erkennen. Weiterer Zusatz von Ammoniak veränderte die Farbe nicht. Beim Veraschen einer kleinen Quantität dieses Urobilins auf dem Platinblech hinterblieb ein reichlicher Rückstand von  $\text{ZnO}$ . Es war hierdurch erwiesen, daß die erhaltene Substanz, welche sich außerdem schwach hygroskopisch zeigte, mit Zn verunreinigt resp. verbunden war.

Dagegen bekommt man bei vollständiger Befolgung der Jaffeschen Vorschriften ein Urobilin, welches allen Eigenschaften des Jaffeschen Harnurobilins entspricht mit einer Ausnahme: es fluoresciert nicht immer; aber auch diese Eigenschaft läßt sich immer durch eine Spur Zn hervorrufen; ihr Fehlen beruht

---

<sup>1)</sup> SAILLET, Revue de médecine, 1897.

offenbar auf einer Verunreinigung.<sup>1)</sup> Alle unten beschriebenen Versuche wurden mit Urobilin gemacht, welches auf einem der beschriebenen Wege gewonnen wurde. Dabei wurde der in 24 Stunden abgesonderte Harn gesammelt und auf Urobilingehalt untersucht. War er gering, so begnügte ich mich mit der Fällung mit basischem Bleiacetat und gute Verreibung des Niederschlages mit Alkohol und Oxalsäure und der Probe mit Amylalkohol. Bei größeren Mengen wurde versucht, eine ungefähre Dosierung auszuführen und zwar auf folgende Weise. Zu einer der zu untersuchenden Menge gleichen Quantität normalen Kaninchenurins wurde eine ebenso große Urobilinmenge zugesetzt, wie dem Tiere eingespritzt war, ein Verfahren, das sich bei allen Versuchen über die Ausscheidung heterogener Substanzen durch den Harn empfiehlt.<sup>2)</sup> Jetzt wurden beide Harne angesäuert (HCl) und bei hellem Tageslicht am Fenster (zur Umwandlung von etwa vorhandenem Urobilinogen in Urobilin) filtriert. Von beiden Filtraten wurden je 200 ccm mit  $\text{NH}_3$  und  $\text{ZnCl}_2$  gefällt, der Niederschlag mittels Saugpumpe abgenutscht, gewaschen, in möglichst geringen Mengen von HCl oder  $\text{NH}_3$  gelöst und auf gleiches Volumen gebracht. Sind die Lösungen nicht ganz klar, so müssen sie filtriert werden. In gleichen abgemessenen Mengen des Filtrats kann die Intensität des Absorptionsstreifens mit dem Handspektroskop verglichen und durch Verdünnung gleich gemacht werden. Der Grad der erforderlichen Verdünnung gibt einen Begriff von der relativen Größe des ausgeschiedenen Urobilins. Natürlich ist dadurch nur eine ziemlich oberflächliche Schätzung ermöglicht. In allen Versuchen außer I bekamen die Kaninchen Futter (Kohlrabi oder Mohrrüben).

### I. Versuche mit Zn-haltigem Urobilin.

#### Versuch I.

Weißes Kaninchen. 0,0047 Urobilin werden mittels zwei Tropfen Natronlauge in 15 ccm Wasser gelöst und unter die

<sup>1)</sup> Jaffe, l. c. S. 416.

<sup>2)</sup> Vgl. E. Salkowski, Über das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 23.

Haut gebracht. Hunger. Im 24stündigen Urin wird mit Amylalkohol deutlich Urobilin nachgewiesen.

#### Versuch II.

Einem Kaninchen werden 0,0059 Urobilin in Lösung unter die Haut gebracht. Am nächsten Tage der Harn aus äußeren Gründen nicht untersucht, am folgenden in 24 Stunden kein Urobilin im Harn.

#### Versuch III.

0,01 Urobilin unter die Haut. Schon nach 3 Stunden ist im Urin direkt deutlicher Urobilingehalt nachweisbar (Spektrum). In 24 Stunden ist etwa die Hälfte ausgeschieden.

#### Versuch IV.

0,007 Urobilin unter die Haut. In 24 Stunden etwa die Hälfte ausgeschieden.

Am nächsten Tage kein Urobilin im Harn (Amylalkohol, Zn-Fällung).

#### Versuch V.

0,012 Urobilin unter die Haut. Ca.  $\frac{1}{3}$  in 24 Stunden ausgeschieden.

#### Versuch VI.

0,004 Urobilin in die Ohrvene gespritzt. Ca.  $\frac{3}{4}$  in 24 Stunden ausgeschieden.

#### Versuch VII.

0,0123 Urobilin in den Magen in 25 ccm Wasser gebracht. In dem 24stündigen Urin durch Zn-Fällung und durch Bleifällung kein Urobilin nachweisbar. Am nächsten Tage im Harne gleichfalls kein Urobilin.

#### Versuch VIII.

In den Magen 0,0123 Urobilin gegossen. In 24 Stunden 320 ccm Urin. Mit Zn-Fällung und mit Amylalkohol kein Urobilin nachweisbar.

#### Versuch IX.

0,036 Urobilin in Lösung in den Magen gebracht. In 24stündigem Urin kein Urobilin (Amylalkohol, Bleifällung).

Am nächsten Tage in 24 Stunden kein Urobilin ausgeschieden. Hierauf werden in den Magen noch 0,012 Urobilin in Lösung gebracht. In 24 Stunden kein Urobilin im Harn (Bleifällung, Amylalkohol).

An demselben Tage 0,0076 in den Magen gebracht. In 24 Stunden kein Urobilin ausgeschieden.

In den folgenden zweimal 24 Stunden kein Urobilin im Harn nachzuweisen.

Darauf wurde das Tier getötet und der Inhalt von Dünn- und Dickdarm untersucht. Der Dickdarm, welcher stark mit Faecalmassen gefüllt war, (die letzten 3—4 Tage hatte das Tier keinen Kot), erwies sich sehr schwach urobilinhaltig. Im Dünn- darm kein Urobilin.

## II. Versuche mit reinerem Urobilin (nach Jaffe dargestellt).

### Versuch X.

0,01 Urobilin werden unter die Haut gebracht. Dasselbe Tier wie Nr. III. In dem 24stündigen Urin kein Urobilin nachweisbar.

### Versuch XI.

0,0399 Urobilin unter die Haut. Dasselbe Tier wie Nr. V. Die ersten ca. 50 ccm gehen verloren. In den 400 ccm Urin nur mit Blei Urobilin schwach, aber deutlich nachweisbar.

### Versuch XII.

0,0074 Urobilin. Am nächsten Tage nur sehr undeutliche Reaktion auf Urobilin mit Zn-Fällung. Der Befund bleibt zweifelhaft.

Aus diesen Versuchen scheint hervorzugehen, daß ein Auftreten von Urobilin im Harn nach Einführung von reinem Farbstoff per os beim Kaninchen überhaupt nicht stattfindet. Diese Tatsache reicht aus, um erklärlich zu machen, daß der Kaninchenharn kein Urobilin enthält, ganz abgesehen davon, daß das Vorkommen von Urobilin im Darms von Kaninchen nicht erwiesen ist. Es ist übrigens sehr bemerkenswert, daß gerade im Darminhalte des Pflanzenfressers bzw. in den Darment-

leerungen sich Bilirubin findet, ganz im Widerspruch mit der Annahme besonders starker Fäulnis im Darm der Pflanzenfresser. Bei Einführen von Urobilin unter die Haut vermag ein nicht unwesentlicher Teil des eingeführten Urobilins die Nieren zu passieren. Ein noch größerer Teil wird ausgeschieden, wenn in die Ohrvene eingespritzt wird. Dabei hat die Verunreinigung mit Zn sicher insofern einen Einfluß, als solches Zn-haltiges Urobilin leichter ausgeschieden wird. Ob das von einer leichteren Ausscheidbarkeit oder von einer schwereren Zersetzbarkeit abhängt, ist aus den Versuchen nicht zu entnehmen.

Die in der Literatur vorliegenden Versuche über Einführung von Urobilin in den Tierorganismus sind nicht zahlreich. Schon Maly<sup>1)</sup> wußte, daß Urobilin, subkutan injiziert, beim Hunde in den Harn übergehen kann. Genauere Versuche scheint er nicht angestellt zu haben.

Ladage<sup>2)</sup> fand nach Einführung von Urobilin per os bei Kranken eine Steigerung des Urobilins im Urin.

Riva<sup>3)</sup> gibt an, daß Einspritzung von Urobilin in das Blut Auftreten von Gallenfarbstoff im Urin nach sich zog.

Vitali<sup>4)</sup> gelang es bei gleichzeitiger Injektion von Urobilin und Gallenfarbstoff oder Blutfarbstoff eine Urobilinurie bei Hunden zu erzeugen.

Achard et Morfaux<sup>5)</sup> fanden beim gesunden Menschen nach Einführung von 0,1 Urobilin subkutan sehr schwache Urobilinurie, nach 0,05 trat nur das Chromogen im Urin auf. Bei 2 Nierenkranken ging das Urobilin in den Harn nicht über.

Zahlreicher sind die Versuche durch Injektion von Bilirubin, eine Ausscheidung von Urobilin zu erzeugen. Als erster machte Jaffe 3 hierher gehörige Versuche an Kaninchen und Hunden. Sie fielen aber negativ aus, außer einem Versuch

<sup>1)</sup> Annal. d. Chemie, Bd. CLXIII, S. 77, zit. nach Eulenburg Realencycl. und Zentralbl. f. Med. Wiss., 1872, S. 518.

<sup>2)</sup> Proefschrift, Leiden 1899, zit. nach Maly, Bd. XXIX, S. 838.

<sup>3)</sup> Riva, Gazz. med. di Torino, 1896, zit. nach Weintraud in v. Noordens Handbuch, Bd. I, S. 762.

<sup>4)</sup> Vitali, Clin. med. Italian., 1900, Weintraud, ibid.

<sup>5)</sup> Compt. rend. de la Soc. biolog., Bd. LI, S. 50.

am Kaninchen, welcher jedoch nicht eindeutig ist, da das Tier krank wurde und bald darauf starb.

Ebensowenig gelang es Kunkel<sup>1)</sup> bei Kaninchen nach Einspritzung von Bilirubin, Urobilin oder Gallenfarbstoff im Harn zu finden.

Einige Versuche in dieser Richtung gaben auch mir ein vollständig negatives Resultat.

#### Versuch XIII.

Weißes Kaninchen. 0,038 g Bilirubin in leicht alkalischem Wasser gelöst per os. In den zwei nächsten Tagen im Urin weder Urobilin noch Bilirubin.

#### Versuch XIV.

0,0076 g Bilirubin subkutan. Am nächsten Tage keine Pigmente im Harn nachzuweisen.

#### Versuch XV.

0,03 g Bilirubin in Wasser subkutan. Urin in den drei nächsten Tagen pigmentfrei.

Bei Gelegenheit der Arbeiten mit Urobilin konnte eine von Prof. E. Salkowski<sup>2)</sup> gemachte Angabe über das Verhalten von urobilinhaltigem Harn bei der Sterilisation bestätigt werden. Es soll das Urobilin in diesem Falle verschwinden. In der Tat gab stark urobilinhaltiger Harn eines Syphilitikers, welcher vor der Sterilisierung direkt deutlichen Streif von Urobilin zeigte und die Amylalkoholprobe sehr stark ausfallen ließ, nach 2stündigem Erhitzen im strömenden Dampfe im Kochschen Dampftopf weder direkt, noch bei Ausschütteln mit Amylalkohol Reaktionen auf Urobilin. Dagegen änderten reine Lösungen von Urobilin ihre Beschaffenheit bei solcher Behandlungsweise nicht. Auch Zusatz von Salzsäure, Ammoniak, Harnstoff (2%) vor der Sterilisierung bleibt ohne Einfluß. So verhielt sich das Urobilin, welches aus Faeces und aus (einem anderen) Harn gewonnen war. Da sich aber das Urobilin im Tierorganismus von dem Zn-Gehalt abhängig zeigte, so schien es möglich, zu denken,

---

<sup>1)</sup> Kunkel, Virchows Arch., Bd. LXXIX, S. 463.

<sup>2)</sup> Virchows Archiv, Bd. CIX, S. 358.



daß Spuren von Metall in dem sog. reinen Urobilin vorhanden wären und es vor Zersetzung schützten. Aber auch Zusatz von  $\text{ZnCl}_2$  schützte das Urobilin im Harn nicht vor Zerfall. Nun gelang es aus Faeces Urobilin zu gewinnen ganz ohne Gebrauch von Metallsalzen. Der alkoholische Faecesauszug wird nach dem Behandeln mit Petroleumäther (wie beschrieben) im Vakuum bis fast zur vollkommenen Trockene eingedampft, in Chloroform gelöst und die Lösung in Petroleumäther gegossen. Nach einiger Zeit scheidet sich das Urobilin in Flöckchen aus, welche am Boden des Glases zusammenfließen. Der Petroleumäther wird abgegossen, das am Boden haftende Urobilin auf dem Wasserbade etwas getrocknet, in Chloroform gelöst und wieder in Petroleumäther gegossen. Nach einigen Wiederholungen dieser Prozedur bekommt man das Urobilin als flockigen Niederschlag, welcher alle Eigenschaften des Urobilins zeigt und ohne Zn-Zusatz in alkoholischer Lösung fluoresciert. Das Verfahren ist umständlich und eignet sich nicht zur Darstellung größerer Mengen von Urobilin. Das so erhaltene Urobilin geht beim Sterilisieren ebensowenig verloren wie das mit Metallfällungen erhaltene.

---