

XXVII.

Zur Lehre von den Eigenschaften und der Abstammung der Harnpigmente.

Von Dr. Max Jaffe,

Privatdocent und Assistenzarzt der medicin. Klinik zu Königsberg i. Pr.

Die zahlreichen Untersuchungen, deren Gegenstand die Farbstoffe des Harns gewesen sind, haben bisher kein befriedigendes Resultat geliefert. Weder hat man uns Substanzen kennen gelehrt von so charakteristischen Eigenschaften, dass man sie als die Ursache der Harnfärbung mit Sicherheit hätte ansprechen dürfen; noch hat man auf die physiologische Frage nach der Abstammung der den Urin färbenden Materien eine Antwort zu geben vermocht. Diesen beiden Erfordernissen haben auch die der jüngsten Zeit angehörigen sehr umfassenden Arbeiten von Thudichum nicht entsprochen, wie sehr sie auch durch das Gepräge der Exactheit vor denen seiner Vorgänger sich auszeichnen mögen. Ob der Urochrom Thudichum's die Summe der genuinen Harnfarbstoffe oder einen Theil derselben repräsentirt, bleibt künftigen Forschungen zu entscheiden. Doch wird von vornherein ein Zweifel an der Reinheit der Substanz erlaubt sein, wenn man sich erinnert, dass Thudichum das Vorkommen des Indicans im Harn geleugnet und dasselbe bei der Darstellung des Urochroms selbstverständlich nicht berücksichtigt hat.

Wenn nun auf der einen Seite die erfolglosen Bemühungen so vieler Forscher geeignet schienen, von dem Studium der Harnpigmente abzuschrecken, so gaben mir andererseits die interessanten Aufschlüsse, die auf diesem dunklen Gebiete noch zu erwarten waren, den Muth, eine Lösung der in Rede stehenden Fragen auf einem anderen Wege, als dem bisher betretenen zu versuchen. Obgleich von dem Endziel meiner Aufgabe noch weit entfernt, habe ich mir erlaubt, die ersten Resultate meiner Untersuchungen im vorigen Jahre bereits kurz mitzuthellen¹⁾.

¹⁾ Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften. 1868. No. 16. S. 241 ff.

Ich habe, um es mit wenigen Worten zu wiederholen, im normalen Harn und gleichzeitig auch in der Galle ein Pigment gefunden, welches durch charakteristische, in saurer und alkalischer Lösung verschieden spectroscopische Merkmale und Farbenerscheinungen ausgezeichnet ist und dessen Präexistenz vermittelst eben dieser Merkmale mit Leichtigkeit dargethan werden konnte. Es wurde schon in meiner ersten Publication ¹⁾ angedeutet, dass diese Substanz nicht der einzige färbende Stoff des Urins ist, und ich hebe diesen Punkt, weil er zu Missverständnissen Veranlassung gegeben hat, hier nochmals ausdrücklich hervor. Die Rolle, die er in der Reihe der Harnpigmente spielt, sein Einfluss auf die natürliche Farbe des Harns wird auf den folgenden Blättern näher präcisirt werden.

Im Interesse der schriftlichen Darstellung konnte ich mich der Nothwendigkeit nicht entziehen, der von mir gefundenen Substanz einen Namen zu geben, so misslich es ist, einen Körper zu taufen, der in völliger Reinheit noch nicht bekannt und dessen chemische Eigenschaften erst unvollkommen ermittelt sind. Da ich ihn als „Harnfarbstoff“ schlechtweg nicht bezeichnen durfte, so habe ich mich vorläufig, um seinen Ursprung aus der Galle anzudeuten, für die Benennung „Urobilin“ entschieden.

Im Laufe fortgesetzter Untersuchungen über diesen Stoff habe ich gefunden, dass in seinen Lösungen, gleichgültig, ob aus dem Harn oder der Galle dargestellt, unter gewissen Bedingungen eine prachtvolle Fluorescenz hervorgerufen werden kann, die sich als neues Characteristicum für das Urobilin verwerthen liess. Die nachfolgenden Mittheilungen beschäftigen sich zu einem grossen Theile mit dieser Erscheinung, welche in Bezug auf Intensität in der Reihe der bekannten fluorescirenden Substanzen kaum ihres Gleichen findet.

Eine schwache Fluorescenz des normalen Harns ist schon seit längerer Zeit bekannt. Schleiss v. Löwenfeld ²⁾ zeigte, dass der durch eine Sammellinse einfallende Sonnenlichtkegel von blassgelbem Harne bläulich, von gelbrothem an der Basis grün und an der Spitze gelb reflectirt wird. Je gesättigter der blassgelbe Harn, desto blauer sei der Lichtkegel, je gesättigter der rothe, desto gelber

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Bayrisches Intelligenzblatt 1861. S. Refer. in Schmidt's Jahrb. 1863.

seine Reflexfarbe; von der Basis dieses Kegels bis zur Spitze finde ein allmählicher Uebergang von Grün zu Gelb statt.“

Einige Jahre später machte Schönbein¹⁾ die Mittheilung, „dass der alkalische Filtrat von Harn, auf dessen Oberfläche sich eine dicke Pilzschicht gebildet hat, eine merklich starke Fluorescenz von grünem Lichte zeigt, ohne dass zum Wahrnehmen derselben ein künstliches Mittel erforderlich wäre. Diese Fluorescenz, die schon am frischen Harn in geringem Grade wahrgenommen werden kann und auch eine verdünnte Eiweisslösung beim Stehen an der Luft in ziemlich hohem Grade erlangt, verschwindet sofort auf Zusatz der stärkeren Säuren (Schwefelsäure, Weinsteinsäure u. s. w.), tritt aber auf Zusatz der Alkalien wieder hervor. Hieraus erhellt, dass sich die fluorescirende Substanz des Harns wie das Aesculin verhält, und hierin wie das Aesculin vom Chininsulfat verschieden ist, dessen Fluorescenz durch Säuren erhöht wird.“

Mehr Aufsehen als die Beobachtungen von Löwenfeld's und Schönbein's machte die Entdeckung von Bence Jones²⁾, dass in den meisten Organen und im Harn verschiedener Thiere und der Menschen eine fluorescirende Substanz vorkommt, die in ihrem Verhalten dem Chinin so ähnlich ist, dass er sie thierisches Chinoidin, „animal Quinvidine“ nennt. Obgleich diese noch der Bestätigung harrende Angabe mit der Erscheinung, die ich alsbald besprechen will, offenbar nichts zu schaffen hat, so konnte ich sie doch hier nicht unerwähnt lassen.

Seit ich mich mit den Harnfarbstoffen eingehender beschäftigte, wurde ich auf die mir bis dahin unbekannte Erscheinung aufmerksam, dass gelber oder gelbrother Harn häufig im reflectirten Lichte eine grünliche Färbung zeigt, die besonders dann hervortritt, wenn man ihn vor einem dunklen Hintergrunde betrachtet. Obgleich dieser grünliche Reflex fast keinem klaren und nicht zu dunklen Urin fehlt, so ist doch die Intensität desselben unter normalen, namentlich aber unter pathologischen Verhältnissen grossen Schwankungen unterworfen. Am schönsten zeigte das Phaenomen der klare, hellgelbe, neutral reagirende Harn eines Diabetikers und es liess sich beobachten, dass mit der später erfolgenden Abnahme

¹⁾ Journal für practische Chemie. Bd. XCII.

²⁾ Chemical News. No. 334. 1866.

des Zuckergehalts die Stärke der Fluorescenz sich verringerte. Trotzdem muss ich gleich hier bemerken, dass die Erscheinung nicht durch den Zuckergehalt bedingt war, sondern von anderen mir zum Theil unbekannten Bedingungen herrührt.

Nach vielfachen vergeblichen Bemühungen, die fluorescirende Substanz des Harns zu isoliren, glaubte ich endlich, freilich auf einem sehr umständlichen Wege, dem Ziele nahe gekommen zu sein. — Ich erhielt eine gleichzeitig den Harnfarbstoff enthaltende Chloroformlösung der fraglichen Substanz, deren Anblick wahrhaft überraschend war. Im durchfallenden Lichte schön rosenroth, zeigte sie im auffallenden eine hellgrüne Farbe von wunderbarer Intensität.

Es wollte mir indess späterhin nicht gelingen, auf demselben Wege die Substanz wieder zu gewinnen und ihre Eigenschaften näher kennen zu lernen. Da kam ein Zufall zu Hülfe.

Bei einer Creatininbestimmung nach Neubauer's Methode, welche Hr. Cand. med. Unruh im Laboratorium der medicinischen Klinik ausführte, bemerkten wir, dass das Filtrat nach Entfernung des Chlorzink-Creatinins ebenso stark fluorescirt, wie die oben beschriebene Chloroformlösung. Im Laufe einer langen Reihe von Creatininbestimmungen, die in dem Urin von verschiedenen (meist fiebernden) Kranken ausgeführt wurden, zeigt sich die Erscheinung so häufig, dass es mir unerklärlich ist, wie sie bisher unbemerkt bleiben konnte.

Es war mir nur möglich, indem ich zunächst alle Einzelheiten der Neubauer'schen Methode festhielt, die Hauptbedingungen kennen zu lernen, unter welchen das Fluorescenzphänomen zu Stande kommt. Es fand sich: 1) dass die Erscheinung vor dem Chlorzinkzusatz entweder gar nicht oder nur äusserst schwach vorhanden ist, nach dem Chlorzinkzusatz aber augenblicklich eintritt, vorausgesetzt, dass die Flüssigkeit sich nicht trübt; ist letzteres der Fall, so muss sie vorher klar filtrirt werden. Damit nach völliger Ausscheidung des Creatinins das Filtrat fluoresciren, muss in demselben — und dieser Fall tritt wohl meistens ein — ein wenn auch noch so geringer Ueberschuss des Zinksalzes gelöst sein. 2) stellte sich übereinstimmend mit den oben angeführten Beobachtungen Schönbein's heraus, dass der alkoholische Harnauszug schwach alkalisch — oder wenigstens nicht sauer reagiren musste, um zu fluoresciren. Nach Zusatz der geringsten Menge freier

Säure (ClH , SO_3 , Ac etc.) verschwand die Fluorescenz augenblicklich; Alkalien stellten sie wieder her. Als dritte und wesentlichste Hauptbedingung aber lehrte die fortgesetzte Beobachtung eine constante Beziehung der Fluorescenzerscheinung zu den übrigen optischen Eigenschaften der Flüssigkeit kennen. Nicht etwa, dass die Intensität der ursprünglichen Farbe im durchfallenden Lichte mit der Intensität der Fluorescenzfarbe gleichen Schritt hielt; im Gegentheil: die hellsten Lösungen schillerten oft im saftigsten Grün, während die dunklen, braunrothen entweder gar nicht oder nur höchst unbedeutend fluorescirten. Allein es ist nicht zu übersehen, dass der zur Creatininausfüllung dienende alkoholische Harnauszug ausser dem Harnfarbstoff eine Reihe von gefärbten Zersetzungsproducten enthält, die sich beim Eindampfen des alkalisch gemachten Harns bilden und dass die Menge dieser Zersetzungsproducte bei gleicher Behandlung äusserst verschieden ist: Oft erhält man aus an und für sich wenig gefärbtem Harn sehr dunkle Extracte, aus an und für sich „hochgestelltem“ concentrirtem Urin dagegen einen hellgelben Extract. Es zeigt sich nun sofort, dass jene dunklen Zersetzungsstoffe mit der Fluorescenzerscheinung nichts zu schaffen haben, dass sie dieselbe vielmehr in hohem Grade stören. Da hingegen fand es sich, dass die Flüssigkeit, wenn sie fluorescirt, gleichzeitig die Spectraleigenthümlichkeiten des Urobilins und zwar selbstverständlich den Absorptionsstreifen (δ) alkalischer Lösungen in ausgezeichneter Weise darboten, während jene nicht fluorescirenden braunen Lösungen nichts davon erkennen liessen. Je stärker die Fluorescenz, desto breiter und dunkler erschien jenes scharf begrenzte Band im Spectrum. Oft war die Lichtabsorption so stark, dass die Flüssigkeit erst stark verdünnt werden musste, um den Streifen zur Anschauung zu bringen.

Unter diesen Umständen drängte sich mir alsbald die Vermuthung auf, dass die fluorescirende Substanz des Harns identisch sei mit derjenigen, welche die eigenthümliche Lichtabsorption bewirkt, also mit dem Urobilin. Um die Richtigkeit dieser Vermuthung zu prüfen, musste der Farbstoff vor allen Dingen möglichst rein dargestellt werden.

Bevor ich mich aber zu den in dieser Absicht unternommenen Versuchen wende, sei es mir gestattet, einige Bemerkungen einzuschalten. Es gibt bekanntlich eine Reihe von Flüssigkeiten, welche

in dicker Schicht betrachtet, andere Farben zeigen, als in dünner Schicht. Für diese Erscheinung ist seit Brücke, der sie an alkalischen Lösungen des Hämatins entdeckte, die (von den Physikern in einer anderen Bedeutung gebrauchte) Bezeichnung Dichroismus üblich. Andererseits werden häufig auch diejenigen Flüssigkeiten dichroitisch genannt, welche im auffallenden Lichte anders gefärbt sind, als im durchfallenden. Dahin gehören z. B. ätherische Chlorophylllösungen, ferner die Lösungen der Gallensäuren in concentrirter SO_3 u. A. m. Allgemeiner Annahme nach beruht in den meisten dieser Fälle die im reflectirten Lichte beobachtete Farbe auf Fluorescenz; doch können geringe Grade eines solchen Dichroismus auch auf andere Weise entstehen. So erscheinen z. B. Flüssigkeiten, welche durch suspendirte Partikelchen einer an sich farblosen Substanz getrübt sind, im auffallenden Lichte vor einem dunklen Hintergrunde blau, im durchfallenden gelb bis roth¹⁾, und wenn das trübe Medium an sich nicht farblos, sondern gelb ist, so kann die Farbe des auffallenden Lichtes grün sein. Diese Farbenerscheinungen haben mit Fluorescenz nichts zu schaffen, sie rühren von den vielfachen Reflexionen und Brechungen des Lichts durch die trübenden Elemente her²⁾; ja, die suspendirten Partikelchen können (wie es z. B. in dichroitischen Hämatinlösungen nach Brücke's Annahme der Fall ist) so klein sein, dass die Flüssigkeit durch sie nicht im geringsten getrübt wird, vielmehr vollkommen durchsichtig bleibt.

Der Dichroismus, der an „trüben“ Medien (im weiteren Sinne) beobachtet wird, ist freilich nicht zu vergleichen mit der Farbenpracht fluorescirender Flüssigkeiten, wie der zinkhaltigen Urobilinlösung; dennoch hielt ich es für geboten, für die letztere, die uns hier speciell interessirt, die Fluorescenz durch directe Versuche zu erweisen. Lässt man in eine mit Chlorzink versetzte Lösung des Harnpigments ein Bündel Sonnenstrahlen, durch eine Linse concentrirt, einfallen, so erhält man einen prachtvoll grünen Lichtkegel, der von der Basis nach der Spitze etwas an Intensität abnimmt.

Betrachtet man diesen Kegel durch ein Nicol'sches Prisma, welches vor dem Auge um seine Längsaxe gedreht wird, so bleibt

¹⁾ Brücke, Ueber die Farben, welche trübe Medien im auffallenden und durchfallenden Lichte zeigen. Wiener akadem. Berichte 1852.

²⁾ Die specielle Erklärung s. bei Brücke a. a. O.

derselbe bei jeder Stellung des Nicols unverändert. Wird vor die Linse ein dickes blaues Glas oder ein mit schwefelsaurem Kupferoxyd-Ammoniac gefülltes Gefäss gehalten, so dass also ein blaues, violettes und ultraviolettes Licht die Flüssigkeit trifft, so wird der grüne Lichtkegel nur etwas schwächer, bleibt aber vollkommen deutlich.

Um die für fluorescirende Substanzen charakteristische Einwirkung auf die ultravioletten Lichtstrahlen darzuthun, wurde auf der weissen Wand eines dunklen Zimmers, in welches durch einen Spalt im Fensterladen Sonnenlicht eindrang, mittelst eines Prisma ein Spectrum entworfen und in dasselbe Papierstreifen, mit einer concentrirten Lösung des Urobilin getränkt¹⁾, derart hineingebalten, dass die obere Hälfte des Spectrums auf die Wand, die untere auf das Papier fiel. Auf letzterem erschien nun der brechbarere Theil des Spectrums von Blau an durch einen langen, intensiv grünen Streifen ersetzt, der das sichtbare Ende des Spectrums auf der Wand um ein grosses Stück überragte.

Nach diesen Versuchen gehört die fragliche Substanz zu den am stärksten fluorescirenden Stoffen; von den meisten derselben unterscheidet sie sich durch eine Eigenthümlichkeit, die übrigens auch dem Chlorophyll und der durch concentrirte SO_3 veränderten Gallensäure zukommt: ihre Fluorescenz ist nemlich nicht nur bei Tageslicht, sondern auch des Abends bei Kerzen- oder Lampenlicht sehr deutlich, während bekanntlich Chinin- oder Uransalzlösungen unter diesen Umständen keine Spur von Fluorescenz zeigen.

Wir kehren nunmehr zu unserer Aufgabe zurück, das Urobilin aus dem Harn zu isoliren und zu erfahren, ob die auf Chlorzink eintretende Fluorescenz in der That von ihm herrührt oder ob sie einem anderen Körper angehört, welcher sich von dem Urobilin trennen lässt.

Als Material für die folgenden Untersuchungen benutzte ich zunächst die stark gefärbten Urine von fiebernden Personen, welche, wie ich bereits mitgetheilt²⁾, das Urobilin stets in grosser Menge enthalten.

Die Farbe solcher Urine variirt bekanntlich in vielfachen Nu-

¹⁾ Dazu eignen sich am besten die bei der Kreatininbestimmung erhaltenen unreinen Lösungen.

²⁾ a. a. O.

ancirungen zwischen roth und braun; alle aber zeigen sie mit grösster Deutlichkeit, häufig erst nach Verdünnung mit Wasser den Absorptionsstreifen γ zwischen den Frauenhofer'schen Linien b und F, ferner den charakteristischen Farbenwechsel bei Zusatz von Alkalien. Letztere Reaction erscheint häufig in so exquisiter Weise, dass ich für diese Fälle den Urobilin als den einzigen färbenden Bestandtheil anzunehmen geneigt bin, während in anderen Fällen die Beimengung anderer Pigmente den Farbenwechsel weniger grell hervortreten lässt.

Es kommen aber auch unter pathologischen Verhältnissen Urine vor, welche, ohne die Charactere des Fieber- oder Stauungsharns, sehr reich an Urobilin sind. — Ich hatte noch jüngst Gelegenheit, einen solchen Harn zu untersuchen, der von einem an Myocarditis leidenden Manne stammte. Der Harn war (nach Digitalisgebrauch) äusserst reichlich, von niedrigem specifischen Gewicht (1010) und bernsteingelber Farbe. In einer Schicht von $1\frac{1}{2}$ Centimeter zeigte er einen exquisiten Absorptionsstreifen, der sich aus dem völlig freien blauen Theil des Spectrums sehr schön hervorhob. Auf Zusatz von NH_3 wurde der Harn fast farblos, nur in etwas dickerer Schicht erschien er noch hellgelb. — Obgleich nun die primäre Farbe dieses Urins auf den ersten Blick sich von der des normalen Harns nicht unterschied, so zeigte sie doch eine Eigenthümlichkeit, welche ich unter ähnlichen Verhältnissen schon mehrfach angetroffen und welche entschieden auf die Anwesenheit des Urobilins zu beziehen ist. Wenn man nemlich einen solchen Harn in einem Gefässe etwas hin und her bewegt, so bemerkt man an den Rändern der Flüssigkeit einen deutlich rosafarbenen Schimmer.

In jedem Urin nun, welcher die genannten optischen Charactere in exquisiter Weise darbietet, lässt sich ohne weitere Behandlung direct eine schöne Fluorescenz hervorrufen, wenn man ihn mit NH_3 alkalisch macht, zu dem Filtrat etwas Chlorzinklösung fügt und den entstandenen Niederschlag abfiltrirt. Bei einem gewissen relativen Mengeverhältniss des NH_3 und Chlorzinks wird der Farbstoff beinahe vollständig gefällt und man erhält ein nur noch schwach gefärbtes Filtrat, welches aber immer noch deutlich fluorescirte, so lange es noch eine Spur von Urobilin enthält. Dieses Verhalten des Chlorzinks im Verein mit NH_3 benutzte ich seitdem vielfach zur Isolirung des Urobilins aus pigmentreichem Harn.

Man verfährt am besten auf folgende Weise: der Urin wird mit einem nicht zu geringen Ueberschuss von NH_3 versetzt, von den ausgeschiedenen Erdphosphaten abfiltrirt und zu dem Filtrat so lange eine concentrirte alkoholische oder wässrige Chlorzinklösung hinzugefügt, als der Niederschlag sich noch vermehrt.

Wenn das Filtrat alsdann noch viel Farbstoff enthält, so kann der Rest desselben durch einen weiteren Zusatz von Ammoniac gefällt werden.

Die voluminösen Zinkniederschläge haben meistens eine schöne rothe oder rothbraune Farbe; sie werden sorgfältig mit kaltem, alsdann mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrat ausgewaschen, alsdann mit Alkohol ausgekocht, endlich bei gelinder Wärme vollständig getrocknet. Die getrocknete und pulverisirte Masse wird nun in wässrigem Ammoniac gelöst, wobei nur ein geringer Rückstand bleibt, die mit Farbstoff überladene Lösung mit Bleizucker gefällt.

Der in der Regel intensiv roth gefärbte Bleiniederschlag wird mit kaltem Wasser gewaschen (doch nicht zu lange, da sonst merkwürdiger Weise ein Theil des Farbstoffes wieder in Lösung geht), getrocknet und mit SO_3 haltigem absoluten Alkohol zerlegt. So erhält man schliesslich eine saure Pigmentlösung, welche stets folgende Charactere zeigt: Im concentrirten Zustande braun, wird sie beim Verdünnen erst rothgelb, bei fortgesetzter Verdünnung aber nicht gelb, sondern rosenroth. Bringt man eine concentrirte Lösung vor den Spalt der Spectralapparate, so erscheint das Spectrum vom violetten Ende her bis etwa zur Linie b völlig dunkel; beim Verdünnen hellt sich der verdunkelte Theil allmählich auf und es bleibt schliesslich ein Absorptionsstreif (γ) mit etwas verschwommenen Rändern an der oft genannten Stelle zwischen den Fraunhofer'schen Linien b und F.

Wird die Lösung durch Ammoniac alkalisch gemacht, so tritt derselbe Farbenwechsel ein, wie wir ihn an dem Urin direct beobachtet haben: die rothgelbe oder rothe Farbe der sauren Lösung macht einer hellgelben, in's Grünliche spielenden Platz. Häufig zeigt die ammoniakalische Lösung schon an und für sich eine merkliche Fluorescenz; meistens aber ist dies nicht oder nur in sehr geringem Grade der Fall; worauf diese Verschiedenheit beruht, vermag ich vor der Hand nicht zu entscheiden.

In dem letzteren Falle wird die Fluorescenz durch Chlorzink augenblicklich hervorgerufen, in dem ersteren wenigstens bedeutend verstärkt. Der Anblick einer solchen fluorescirenden Lösung des Urobilins gewinnt an Schönheit noch dadurch, dass die vorher bestehende gelbe Farbe des durchfallenden Lichts durch das Chlorzink in ein zartes Rosenroth verwandelt wird.

Bisher war nur vom Chlorzink die Rede; es verhalten sich aber alle anderen Zinksalze (schwefelsaures, salpetersaures, milchsaures, buttersaures Zinkoxyd) genau wie die Chlorverbindung.

Von anderen Salzen, die ich in Bezug auf Fluorescenzerregung untersuchte, fand ich nur einige lösliche Kalksalze (Chlorcalcium und milchsauren Kalk) und das Chlorbarium in wenn auch sehr geringem Grade wirksam; während die Verbindungen der Magnesia, der Thonerde, des Cadmiumoxyds und anderer Metalloxyde sich völlig negativ verhielten. Auch einige organische Stoffe, z. B. Traubenzucker wurden geprüft — letzterer mit Rücksicht auf die Eingangs erwähnte starke Fluorescenz diabetischen Harns — allein ohne Erfolg. Da ich somit keine Substanz gefunden habe, welche dem Zink einigermaassen Concurrenz machen konnte, und da, wie es scheint, sehr geringe Mengen eines Zinksalzes zur Hervorrufung einer starken Fluorescenz ausreichen, so lässt sich vielleicht diese Reaction zur Erkennung der Zinksalze bei qualitativen Analysen verwerthen. Man hätte für diesen Zweck nur nöthig, den gut ausgewaschenen und getrockneten Bleiessigniederschlag von rothem Fieberharn — der bei der Aufbewahrung sich durchaus nicht verändert — in den Laboratorien vorrätzig zu halten und für den jedesmaligen Gebrauch eine geringe Menge desselben mit SO_3 oder Oxalsäurehaltigem Alkohol zu zerlegen, die Lösung mit NH_3 alkalisch zu machen und nach dem Abfiltriren des Niederschlags mit der fraglichen Substanz zu versetzen. Wenn sie Zink enthält, so wird das Filtrat sicher starke grüne Fluorescenz zeigen ¹⁾,

Die Verdünnung, bei der die Fluorescenz in Urobilinlösungen erscheint, ist enorm. Lösungen, die im durchfallenden Lichte fast

¹⁾ In ähnlicher Weise hat neulich Goppelsröder (im Journal für pract. Chemie Bd. 101 u. 104) zur Erkennung von Thonerdesalzen das Fluorescenz erregende Verhalten desselben gegen Morin, einen Bestandtheil des Cubaholzes, benutzt. Wie bereits erwähnt, wurden die Thonerdesalze in Urobilinlösungen wirkungslos gefunden.

farblos sind, zeigen im auffallenden noch deutlich grünen Schimmer, namentlich wenn sie den directen Sonnenstrahlen ausgesetzt werden.

Ein eigenthümliches Verhalten sei hier noch erwähnt. Bereits in meiner vorjährigen Mittheilung im Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften wurde angeführt, dass der für alkalische Lösungen des betreffenden Harnpigments so charakteristische Absorptionsstreifen δ bei Anwendung von NH_3 nur schwach, weit schwächer wenigstens, als bei Anwendung von Kali- oder Natronlauge zu Tage tritt. Fügt man nun zu einer schwach ammoniakalischen Urobilinlösung, die an und für sich den Streifen gar nicht oder nur undeutlich zeigt, Chlorzink zu, so erscheint derselbe sofort in der grössten Schärfe.

Dieses Absorptionsband liegt, wie bereits angegeben¹⁾, zwischen den Linien b und F, aber der Linie b näher, als der Streifen der sauren Lösung (γ). — Es ist weit dunkler, schärfer begrenzt, als letzteres und bleibt noch bei den grössten Verdünnungsgraden sichtbar.

So lange noch eine Spur von Fluorescenz besteht, wird man auch im Spectrum die schmale dunkle Linie δ im Grün nicht vermissen. — Je concentrirter die alkalische Urobilinlösung, desto breiter und dunkler wird der Streifen; die Verbreiterung geschieht aber ausschliesslich nach dem Blau hin, während das Spectrum auf der anderen Seite des Streifens ganz unverändert bleibt. Bei einem gewissen Concentrationsgrade ist endlich das ganze Blau und Violett so vollständig absorbirt, wie durch saure Urobilinlösungen von gleicher Concentration. Die Farbe alkalischer Lösungen wird mit zunehmender Concentration immer gesättigter gelb, schliesslich braungelb, während bei starker Verdünnung dieselbe allmählich wieder einen röthlichen Ton annimmt und endlich in ein schwaches Rosa übergeht.

Es wird aufgefallen sein, dass ich die Eigenschaften der nach obiger Methode erhaltenen Urobilinlösung so ausführlich beschrieb, bevor ich die Darstellung des Pigments in festem Zustande zu Ende geführt. — Es geschah dies, wie alsbald sich ergeben wird, aus dem Grunde, weil das völlig isolirte Pigment eine unerwartete

¹⁾ a. a. O.

Eigenthümlichkeit zeigte, welche ihm in jener Lösung noch fehlte, die Eigenthümlichkeit nemlich, auch ohne Mithülfe von Chlorzink stark zu fluoresciren.

Zur Abscheidung des Pigments aus der Lösung in SO_3 haltigem Alkohol wählte ich nach mehreren Versuchen folgendes Verfahren: Die Lösung wird mit etwa dem halben Volumen Chloroform vermischt und alsdann mit einem grossen Ueberschuss von destillirtem Wasser geschüttelt. Nachdem die Chloroformlösung sich klar abgesetzt, wird sie durch einen Scheidetrichter entfernt und noch 1—2 Mal mit destillirtem HO gewaschen. Das Auswaschen muss möglichst schnell und ohne Anwendung von zu grossen Quantitäten Wasser beendet werden, weil sonst nicht unbeträchtliche Mengen Farbstoff in die Waschflüssigkeit übergehen. Sobald daher die letztere sich zu färben beginnt, hebt man die Chloroformlösung ab und unterwirft sie der Destillation.

Man erhält auf diese Weise, selbst wenn man grössere Quantitäten stark gefärbten Harns in Arbeit genommen, immer nur einen sehr geringfügigen Rückstand, dessen Eigenschaften aber sehr übereinstimmend sich zeigten, gleichgültig, welche ursprüngliche Farbennüance der als Material dienende Harn darbot. — Die Substanz ist amorph, etwa harzähnlich, hat eine rothe Farbe und lässt sich in Alkohol, Aether und Chloroform erst mit braungelber, bei der Verdünnung mit gelber, schliesslich mit schwach rosenrother Farbe. Diese Lösungen reagiren vollkommen neutral und zeigen an und für sich schon eine sehr beträchtliche Fluorescenz, so stark beinahe, als sie sonst nur nach Chlorzinkzusatz beobachtet wurde. Im Spectralapparat zeigen sie denselben dunklen, scharf begrenzten Absorptionsstreifen (δ), wie alkalische Lösungen. Auf Zusatz von Chlorzink (ohne NH_3) entsteht in alkoholischer Lösung keine Trübung, keine erhebliche Zunahme der Fluorescenz; war aber die Lösung im durchfallenden Lichte gelb, so tritt sofort die schon oben erwähnte Umwandlung der Farbe in ein schönes Roth ein.

Wie erklärt sich nun die Erscheinung, dass Urobilin in isolirtem Zustande eine so starke Fluorescenz besitzt, wie sie in unreinerer Lösung nur unter Mitwirkung von Zinksalzen zu Stande kommt. Offenbar gibt es nur zwei Möglichkeiten: entweder nemlich ist das scheinbar reine Urobilin noch verunreinigt durch fluo-

rescirende Stoffe, deren Wirkung in unreinen Lösungen durch andere fremde Substanzen paralysirt wird; oder aber, das reine Pigment fluorescirt an und für sich, ohne Mitwirkung anderer Stoffe; die Fluorescenz wird aber in jenen unreinen Lösungen aufgehoben durch gewisse Substanzen, deren Hemmungsvermögen wiederum durch Zinksalze neutralisirt wird.

Zwischen diesen beiden Erklärungsmöglichkeiten zu entscheiden, erlauben die bisher ermittelten Thatsachen nicht.

Durch die vorstehenden Untersuchungen glaube ich, so weit es möglich war, den Beweis für meine Voraussetzung geliefert zu haben, dass der rothe Farbstoff, dem wir den Namen Urobilin gegeben und den wir zunächst aus dem ergiebigen Material des Fieber- und Stauungsharns dargestellt, in der That das auffallende Phaenomen der Harnfluorescenz bedingt. Freilich bilde ich mir nicht ein, die Körper schon im Zustande chemischer Reinheit kennen gelernt zu haben; es ist nicht unmöglich, dass er bei fortgesetzter Untersuchung, die ich mir vorbehalte, sich als ein Gemenge mehrerer Stoffe ausweisen, dass von dem Farbstoff vielleicht eine ungefärbte fluorescirende Substanz sich wird lostrennen lassen. Vor der Hand haben wir die Fluorescenzfähigkeit mit den übrigen Eigenschaften des Farbstoffes in untrennbarer Gemeinschaft und genauester Proportionalität gefunden.

Man wird geneigt sein, das Urobilin mit dem schönen rothen Farbstoff der bekannten Ziegelmehlsedimente in Beziehung zu bringen: Allein die beiden Pigmente sind nicht mit einander zu identificiren.

Wenn auch in vielen der Sedimente das Urobilin unzweifelhaft vorkommt, so scheint es in anderen vollständig zu fehlen oder in Gemeinschaft mit einem oder mehreren anderen durch ihr ganzes Verhalten verschiedenen Farbstoffen zu existiren. Dass die rothen Sedimente des Fieberharns mindestens zwei verschiedene Pigmente enthalten (darunter eines, welches durch Natronlauge grün gefärbt wird) hat bereits Hoppe-Seyler¹⁾ angegeben.

Uebrigens habe ich das Urobilin als rothen Farbstoff auch aus Harn von normaler gelber Farbe, der keine Spur solcher Sedimente absetzte, dargestellt.

¹⁾ Handbuch der physiolog. u. patholog.-chemischen Analyse. S. 175.

Das Vorkommen des Urobilins im normalen Harn.

Der Urin gesunder Personen zeigt häufig in einer Schicht von mehreren Centimentern, vor den Spalt des Spectralapparates gebracht, einen deutlichen, nicht sehr dunklen Absorptionsstreifen, welcher, der Lage nach, mit dem der sauren Urobilinlösungen vollkommen übereinstimmt. Macht man ihn dann mit Kali oder Natron alkalisch, so erhält man im Filtrat auch eine Andeutung des Streifens δ .

In den meisten Fällen aber ist ohne Weiteres ein deutliches Absorptionsband nicht zu erkennen: vielmehr wird entweder das ganze Spectrum durchgelassen, in den brechbareren Theilen nur etwas lichtschwächer, oder aber das ganze Violett und Blau ist so stark verdunkelt, dass die bandförmige Lichtabsorption durch das Urobilin, selbst wenn dieser Stoff unzweifelhaft vorhanden ist, nothwendig verdeckt werden muss. Wo die directe Untersuchung des frischen Harns im Stiche lässt, kann die Anwesenheit des Urobilin durch ein einfaches Verfahren am besten folgendermaassen constatiert werden: Man fällt 100—200 Ccm. des Harns mit Bleiessig und zerlegt den gut ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag mit Oxalsäurehaltigem Alkohol. Falls diese Lösung — was nur selten der Fall ist — noch keinen deutlichen Absorptionsstreifen erkennen lässt — wird sie mit Chloroform versetzt und mit destillirtem Wasser geschüttelt. Auf diese Weise erhält man nicht allein, ohne die durchaus zu vermeidende Anwendung von Wärme, das Urobilin in concentrirterer Lösung, sondern es werden auch, wie es scheint, durch das Waschwasser vorzugsweise diejenigen Stoffe entfernt, welche durch ihre absorbirende Einwirkung auf den violetten und blauen Theil des Spectrums die Präcision des Streifens stören.

Mit Hilfe dieser Methode ist mir bisher — mit Ausnahme eines einzigen zweifelhaft gebliebenen Falls — in jedem normalen Harn der sichere Nachweis des Urobilin gelungen und da meine Untersuchungen sich auf fünfundvierzig gesunde Individuen erstreckten, so bin ich wohl berechtigt, das Urobilin zu den constanten Harnbestandtheilen zu zählen.

Anfangs war ich sogar geneigt, die Farbe des normalen Harns ausschliesslich von dem in Rede stehenden Pigment herzuleiten, allein fortgesetzte Untersuchungen haben mich bald eines Besseren

belehrt. Wäre das Urobilin der einzige Farbstoff des Harns, so müsste seine Menge stets der Intensität der Harnfärbung entsprechen. Dies ist wohl im Allgemeinen, aber nicht ausnahmslos der Fall. Wenn man überdies die durch Oxalsäure und Alkohol gewonnene Pigmentlösung mit Lösungen des möglichst rein dargestellten Urobilins vergleicht, so findet man, dass die gesättigte gelbe oder gelbrothe Farbe der ersteren in keinem Verhältniss steht zu der häufig nur geringen Ausbildung ihres Absorptionsstreifens. Die Behandlung mit Chloroform und Wasser zeigt endlich, dass ausser dem Urobilin noch andere Pigmente in der Lösung sind; die Chloroformlösung zeigt die Reactionen des Urobilin weit ausgeprägter, als die ursprüngliche alkoholische, ist aber dabei weit blasser, als diese, da die intensiver färbenden Stoffe durch das Wasser entfernt wurden.

Fudakowsky¹⁾ hat bei der Prüfung meiner Angaben, die er in allen ihren Einzelheiten bestätigen konnte, ähnliche Erfahrungen gemacht; ich muss demselben daher vollkommen Recht geben, wenn er das von mir gleichzeitig in der Galle und im Harn aufgefundene Pigment nicht als „Harnfarbstoff“ schlechtweg bezeichnet wissen will; dagegen muss ich mich entschieden gegen seine Auffassung verwahren, nach welcher dem Befunde des Urobilin im normalen Harn keine grössere Bedeutung zukommen sollte, als dem ebendasselbst hin und wieder beobachteten Vorkommen anderer Gallenstoffe. Das Urobilin haben wir — das ist der grosse Unterschied — als constanten Bestandtheil des Harns kennen gelernt; es muss ihm daher sein Platz in der Reihe der normalen Harnpigmente unbestritten bleiben.

Seine Menge, unter verschiedenen noch nicht eruirten Umständen wechselnd, ist häufig nicht unbeträchtlich; wir haben ja gesehen, dass der Stoff in vielen Fällen direct, ohne Behandlung mit Bleiessig u. s. w. erkannt werden kann.

Bei reichlicherem Vorkommen hat er auch einen nachweisbaren Einfluss auf die Harnfarbe, der sich namentlich in der alkoholischen Lösung des Bleiniederschlags durch den oben erwähnten eigenthümlichen rosafarbenen Schimmer zu erkennen gibt²⁾.

¹⁾ Centralblatt für die medic. Wissenschaften. 1869. No. 9.

²⁾ Man könnte geneigt sein, diese rothe Nuance auf Zersetzungsproducte des Indicans oder anderer Stoffe zu beziehen; allein solche Stoffe scheinen sich

Es bleibt nunmehr der Beweis nachzuholen, dass der betreffende Farbstoff des normalen Harns wirklich identisch ist mit dem Urobilin des Fieberharns, vor allen Dingen, dass er unter denselben Bedingungen wie dieser grün fluorescirt. Dieser Nachweis ist leicht zu liefern: Man macht die saure alkoholische Lösung des Bleiniederschlags, wenn sie den Streifen γ deutlich zeigt, durch NH_3 alkalisch und findet im Filtrat nach Chlorzinkzusatz exquisite Fluorescenz, im Spectrum mit grosser Deutlichkeit den Streifen δ . — Zur Reindarstellung des Urobilins aus normalem Harn ist directe Fällung mit Chlorzink und Ammoniac, die wir beim Fieberharn so brauchbar fanden, nicht anwendbar. Man mag das Verhältniss zwischen den beiden Reagentien variiren, wie man will, man erhält immer nur ungefärbte Niederschläge oder nur eine sehr unvollständige Fällung des Farbstoffs. Ich musste daher für die Isolirung des Urobilins bei der Behandlung mit Bleiessig stehen bleiben, wodurch freilich alle anderen Farbstoffe des Harns, auf die ich vorläufig keine weitere Rücksicht nehmen wollte, mit gefällt werden.

Der Bleiniederschlag — selbstverständlich muss eine grosse Menge Harn in Arbeit genommen werden — wird sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, getrocknet und alsdann mehrmals mit Alkohol ausgekocht, wodurch ein Stoff entfernt wird, welcher in der alkoholischen Lösung durch Schwefelsäure, namentlich beim Erwärmen, eine rosen- bis kirschrothe Färbung annimmt¹⁾.

Nach dem Auskochen mit Weingeist wird der Bleiniederschlag mit absolutem Alkohol und Schwefelsäure zerlegt, die jetzt resultirende Lösung mit NH_3 übersättigt, das Filtrat mit etwa dem gleichen Volumen destillirten Wassers verdünnt und nunmehr mit Chlorzink versetzt. Es entsteht jetzt durch dieses Reagens eine reichliche Fällung meist von braunrother Farbe; das Filtrat ist immer noch ziemlich stark gefärbt, enthält aber, wie die Unter-

bei Behandlung mit Oxalsäure und Alkohol in der Kälte nicht zu bilden, und ausserdem fand ich die Erscheinung nur bei reichlicherem Urobilingehalt. ... Nicht selten begegnet man indessen im normalen Harn einem anderen, manchmal erst nach kurzem Stehen an der Luft sich bildenden Pigment, welches den Lösungen eine schmutzig rothe Farbe ertheilt, und durch einige verwaschene Absorptionsstreifen in Grün characterisirt ist. — Ich habe diesen, wie gesagt, nicht häufig vorkommenden Farbstoff noch nicht genauer untersucht.

1) Die angeblichen Gallensäuren des normalen Harns?

suchung ergibt, nur noch wenig Urobilin, sondern einen grossen Theil der anderen Harnpigmente. Der Chlorzinkniederschlag wird nun genau so weiter behandelt, wie es für den Fieberharn angegeben ist. Bei dem Auswaschen der zuletzt übrig bleibenden sauren Alkohol-Chloroformlösung wird der grösste Theil der anderen Harnpigmente entfernt, ein geringer Rest desselben bleibt aber stets als Verunreinigung bei dem Urobilin zurück, dessen Farbe in Folge dessen von dem aus Fieberharn erhaltenen Product etwas abweicht und bei verschiedenen Darstellungen nicht immer ganz gleiche Nuancen zeigt. — Im Uebrigen aber unterscheidet sich der nach dem Verdunsten des Chloroforms zurückbleibende geringfügige Rückstand in Nichts von dem Urobilin des Fieberharns. Es ist amorph, schmutzgröth oder rothgelb, löst sich in Alkohol, Aether und Chloroform mit gelber, bei der Verdünnung mit röthlicher Farbe, zeigt, wenn es vollkommen neutral reagirt, den Streifen δ und eine starke grüne Fluorescenz, die durch Chlorzink wenig verstärkt, durch Säuren aufgehoben und durch Alkalien wieder hergestellt wird.

Es liegt nahe, die geringe Fluorescenz des frischen Harns, welche schon früheren Beobachtern nicht unbekannt geblieben ist, von der Anwesenheit des Urobilins herzuleiten. Der Harn enthält ja Stoffe, welche wir in geringem Grade fluorescenzerregend gefunden haben, z. B. gelöste Kalksalze, und es gibt gewiss noch andere, vor der Hand unbekannte, denen dieses Vermögen in noch höherem Grade zukommt.

Auf der anderen Seite ist aber die Möglichkeit nicht zu bestreiten, dass ausser dem Urobilin noch andere fluorescirende Stoffe vorkommen können, selbst abgesehen von dem Eiweissbarn, der seinen grünen Reflex sicher zum Theil seinem Gehalt an Eiweiss verdankt.

Das Verhalten des Harns gegen Säuren spricht sogar dafür, dass seine Fluorescenz nicht immer und ausschliesslich von Urobilin herrührt; denn während dieselbe in vielen Fällen durch die stärkeren Säuren aufgehoben, durch Alkalien verstärkt wird, tritt in anderen Fällen durch die Säure kein völliges Verschwinden, kaum eine Abschwächung ein. Darauf, dass die dem frischen Harn eigenthümliche saure Reaction die Fluorescenzerscheinung nicht ausschliesst, will ich kein Gewicht legen, weil erstere bekanntlich vorwiegend von saurem, phosphorsaurem Natron, ausnahmsweise vielleicht von freien Säuren herrührt.

Ein Chromogen des Urobilins.

Vor einiger Zeit hatte ich Gelegenheit, den Harn eines gesunden Menschen zu untersuchen, welcher, frisch entleert, eine auffallend blasse Farbe und keine Spur eines Absorptionsstreifens zeigte. Als ich nach mehreren Stunden den Harn, der inzwischen in einem offenen Gefässe der Luft ausgesetzt war, abermals vor den Spalt des Spectralapparates brachte, fand ich zu meiner Ueerraschung einen Urobilinstreifen, so dunkel und scharf begrenzt, wie er kaum in manchem Fieberharn beobachtet wird.

Gleichzeitig war der ursprüngliche blassgelbe Urin dunkler geworden und hatte einen Stich in's Röthliche bekommen. — Seit dieser Beobachtung habe ich dieselbe Erscheinung mehr oder weniger ausgeprägt in der Mehrzahl der zur Untersuchung gezogenen Urine wahrgenommen: wenn der Harn ursprünglich blass war und ein ununterbrochenes Spectrum gab, so stellte sich nach einigen Stunden ein Streifen ein; zeigte er alsbald nach der Entleerung schon den Absorptionsstreif, so nahm derselbe an Intensität deutlich zu. Und diese Veränderungen waren regelmässig begleitet von der im obigen Falle schon bemerkten Nachdunkelung. Es war somit klar, dass der frisch gelassene Harn häufig einen Stoff enthält, welcher sich allmählich erst in Urobilin umwandelt, — denn dass der neugebildete Farbstoff wirklich Urobilin ist, geht daraus hervor, dass stets, sobald der Streifen γ auftritt, auf Zusatz fixer Alkalien auch der Streifen δ sich einstellt und durch NH_3 und Chlorzink eine merklich starke Fluorescenz hervorgerufen wird.

Die Umwandlung des Chromogen erfolgt durch Aufnahme von Sauerstoff aus der atmosphärischen Luft, wie sich durch folgenden einfachen Versuch beweisen lässt.

Ein Glasgefäss wird mit frisch entleertem Harn bis zum Ueberlaufen gefüllt und sofort mit einem Gummipfropfen luftdicht verschlossen; eine zweite Portion desselben Harns wird in einem offenen Glase mit weiter Mündung der Luft ausgesetzt. Falls nun der Harn das Chromogen enthält, so beginnen in der zweiten Portion nach 1—2 Stunden die beschriebenen Veränderungen und erreichen in etwa 12 Stunden das Maximum ihrer Intensität; die erste Portion dagegen hat in dieser Zeit weder ihre Farbe noch ihr spectroscopisches Verhalten geändert.

Oeffnet man nunmehr den Stöpsel und gestattet der Luft freien Zutritt, so bemerkt man auch hier in kürzester Frist das Dunklerwerden und Auftreten des Streifens γ .

Das Chromogen liess sich in etwa $\frac{2}{3}$ der Fälle, die ich darauf untersuchte, nachweisen, während der Farbstoff selbst — mit Ausnahme jener oben erwähnten zweifelhaften Fälle — als nie fehlender Bestandtheil des Harns erkannt wurde. Die Anwesenheit des Urobilins wurde in der Mehrzahl der Fälle an dem ganz frischen noch warmen Urin constatirt, theils durch directe spectroscopische Beobachtung, theils durch sofortige Fällung mit Bleiessig; nur in einigen Fällen konnte die Untersuchung erst mehrere Stunden nach der Entleerung des Urins vorgenommen werden.

Ueber die Abstammung des Urobilin im Harn.

Die Annahme, dass die Harnfarbstoffe von den Pigmenten der Galle abstammen, ist aus physiologischen Gründen sehr plausibel; aber die Thatsachen, welche man bisher zur Stütze dieser Annahme anführen konnte, fallen kaum in's Gewicht und enthalten auch nicht die Spur eines Beweises.

In der Absicht, eine directe Entscheidung zu versuchen, hielt ich es zunächst für geboten, die bei der Oxydation der Gallenpigmente auftretenden, so gut wie unbekannten Umwandlungsproducte etwas näher in's Auge zu fassen und weiterhin zu untersuchen, ob sich unter diesen eine Substanz findet, welche mit den Eigenschaften eines oder der anderen Harnfarbstoffe übereinstimmt. Bald glaubte ich auch dem gesuchten Verhältniss auf der Spur zu sein. Man wird sich aus meinen vorjährigen Mittheilungen ¹⁾ erinnern, dass während der Einwirkungen oxydirender Substanzen, NO_2 , Ozon, Brom u. A. auf Bilirubinlösungen unter anderen Spectralveränderungen ein Absorptionsstreifen zwischen den Frauenhofer'schen Linien b und F auftritt, der gegen das Ende der Reaction hin seine grösste Intensität erreicht und von mir auf ein neugebildetes rothes Pigment bezogen wurde. — Bald darauf fand ich in der Lage nach mit jenem vollkommen übereinstimmendes Absorptionsband (γ) erst im Fieberharn, dann auch im normalen Urin und es lag die Versuchung nahe, den betreffenden Farbstoff des

³⁾ a. a. O. u. Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie. Bd. I.

Harns mit jenem Oxydationsproduct des Bilirubins zu identificiren, um so mehr, als beide noch eine weitere Eigenthümlichkeit mit einander gemein hatten, die nemlich, dass in beiden Fällen der Streifen durch Alkalien zum Verschwinden gebracht, durch Säuren wieder hervorgerufen wird. — Allein bei weiterer Untersuchung gingen die Eigenschaften der beiden Pigmente auseinander; für den Harnfarbstoff kam als neues Characteristicum der Streifen δ alkalische Lösungen und die vor Kurzem entdeckte Fluorescenz hinzu; beide fehlen dem Oxydationsproduct des Bilirubin.

Die Möglichkeit der Abstammung des Harnfarbstoffes aus dem Bilirubin der Galle war damit selbstverständlich noch nicht widerlegt. Die chemische Thätigkeit des lebenden Organismus, die wir durch unsere Oxydationsmittel nicht zu ersetzen vermögen, könnte ja aus dem Gallenpigment eine Substanz von den Eigenschaften des Urobilin herstellen, ähnlich wie sie die in unseren Laboratorien noch nicht nachgeahmte Umwandlung des Blutfarbstoffes in Gallenpigment bewirkt.

Wenn ein Thier, das für gewöhnlich kein Urobilin producirt, diesen Stoff nach Fütterung mit chemisch reinem Bilirubin¹⁾ auszusecheiden beginnt, so ist die uns beschäftigende Frage im bejahenden Sinne erledigt. — Anders dagegen verhält sich die Sache, wenn dieser Erfolg der Bilirubinfütterung bei solchen Thieren eintritt, die zwar Urobilin produciren, es aber für gewöhnlich nicht im Harn ausscheiden; dann bleibt nemlich der Einwand zu beseitigen, dass durch das Experiment möglicherweise Bedingungen gesetzt wurden, welche den Uebergang des schon im Organismus unabhängig von der Bilirubinzufuhr vorhandenen Urobilin in den Harn begünstigten. — Die folgenden Experimente, welche zu keinem positiven Resultat führten und vor der Hand leider nicht fortgesetzt werden können, weil mein Vorrath an reinem Bilirubin erschöpft ist, will ich nur anführen, um zu ähnlichen Versuchen anzuregen.

Hunde und Kaninchen, welche zu den Experimenten benutzt

¹⁾ Das genau nach Städeler's Vorschrift dargestellte Bilirubin ist völlig frei von Urobilin, während ihm bei weniger sorgfältiger Bereitung eine geringe Menge dieser Substanz, die auch in den Gallensteinen niemals fehlt, äusserst hartnäckig anhaftet. Bei Untersuchungen, wie den bald zu erwähnenden, ist daher chemische Reinheit des zur Fütterung dienenden Bilirubins erstes Erforderniss.

wurden, gehören zu den Thieren der zweiten Kategorie: sie haben Urobilin in der Galle, aber nicht im Harn.

Experiment I. Einer alten weissen Hündin werden circa 15 Ccm. einer concentrirten Lösung von Bilirubin in kohlensaurem Natron unter die Haut gespritzt; — nach 24 Stunden die gleiche Dosis. Der Harn zeigt am ersten Tage keine Veränderung, ausser etwas Eiweiss; an den folgenden beiden Tagen enthielt er etwas Gallenfarbstoff, später wurde er stark blutig und blieb es mehrere Tage; Urobilin ist nie aufgetreten.

Die Haut wurde auf einer Seite an der Injectionsstelle in grossem Umfange gangränös (wohl durch die mechanische Verletzung und das kohlensaure Natron?); auf der anderen Seite entwickelte sich ein grosser Abscess. — Das Thier war vom 2. Tage nach der ersten Einspritzung an matt, frass nichts, magerte ab und erholte sich erst allmählich, während die Hautdefecte vernarben.

Experiment II. Ein kräftiges graues Kaninchen erhält sechs Pravaz'sche Spritzen einer alkalischen Bilirubinlösung (Ueberschuss von Alkali war vermieden) subcutan; am anderen Tage die gleiche Dosis. — Weder vor noch nach der Injection enthielt der Harn Urobilin.

Experiment III. Ein kräftiges weisses Kaninchen, dessen Harn bei längerer Beobachtung sich urobilinfrei erwies, erhält 5 Spritzen einer gesättigten Lösung von Bilirubin in kohlensaurem Natron unter die Haut. — Bis zum Abend keine Veränderung des Harns; daher nochmals die gleiche Dosis. Am folgenden Tage enthält der Harn Eiweiss, aber weder Gallenfarbstoff, noch Urobilin. Es werden nun 3 Spritzen obiger Lösung in die rechte V. jugularis injicirt; nach 5 Stunden kein Erfolg: Injection derselben Dosis in die linke V. jugularis; ausserdem 3 Spritzen subcutan. An den beiden folgenden Tagen fortdauernde Albuminurie, sonst keine Veränderung des Harns. Vom 3. Tage ab zeigt der Harn mehrere Tage hindurch einen schwachen, aber deutlichen Absorptionsstreifen des Urobilins; bei Hinzufügung von Alkalien zu dem von Eiweiss befreiten Harn wurde derselbe so dunkel, dass das Spectrum mit Ausnahme des Roth, Gelb und ein Theil des Grün verdeckt wurde; der Absorptionsstreifen δ konnte daher nicht wahrgenommen werden; nach Zusatz von Chlorzink schwarze aber dunkle Fluorescenz. — Leider reichte die geringe Menge des entleerten Harns zu einer genauen Prüfung, ob derselbe wirklich Urobilin enthielt, oder nur das oben erwähnte Oxydationsproduct des Bilirubins, nicht aus. — Nach einigen Tagen verschwand der Streifen wieder aus dem Harn. Das Thier magerte immer mehr ab und starb nach etwa 8 Tagen. — Das subcutane Zellgewebe war an einer einzigen Injectionsstelle stark icterisch gefärbt, an den übrigen ohne Veränderung. — Uebrigens ergab die Section nichts Bemerkenswerthes.

Der scheinbar positive Erfolg dieser Experimente muss, selbst wenn es sich wirklich um Urobilin gehandelt haben sollte, mit Vorsicht gedeutet werden. — Das Auftreten des Urobilin kann — wofür besonders das späte Erscheinen desselben, am 3. Tage nach

der letzten Einspritzung spricht — die Folge des unzweifelhaft krankhaften, vielleicht febrilen Zustandes gewesen sein, in welchen das Thier durch die zahlreichen subcutanen Injectionen und die Unterbindung beider V. jugular. versetzt wurde.

Also: Eine genetische Beziehung des rothen Harnpigments zu dem Bilirubin lässt sich vor der Hand nicht erweisen, aber auch nicht ausschliessen. Mit Sicherheit aber habe ich ermitteln können, dass die Substanz aus der Galle stammt: denn sie lässt sich in derselben mit allen ihren Eigenschaften bei Menschen sowohl, als bei verschiedenen Thieren (Hunden, Kaninchen) nachweisen. — Wenn man den alkoholischen Extract abgedampfter Galle in Wasser löst, dem eine geringe Menge verdünnter Säure (ClH , SO_3 oder PO_3) zugesetzt ist, so erhält man ein Filtrat, das bald mehr, bald weniger intensiv gefärbt ist und dessen Farbe den verschiedenen Nüancen der Harnfarbe täuschend ähnlich ist. Dieses saure Filtrat zeigt mit grösster Deutlichkeit einen Absorptionsstreif von der Lage des Streifens γ ; es ändert seine Farbe bei Zusatz von Alkalien stets in ein helles Gelb, während der Streifen γ verschwindet und ein neuer mit δ vollkommen übereinstimmender auftritt. Wenn nach diesen schon früher von mir mitgetheilten Thatsachen noch ein Zweifel bestehen konnte an der Identität des fraglichen Farbstoffes der Galle mit dem des Harns, so glaube ich diesen Zweifel nunmehr beseitigen zu können durch die Erfahrung, dass in den Lösungen des ersteren dieselbe Fluorescenzerscheinung und unter denselben Bedingungen sich hervorrufen lässt, wie in den Lösungen des Harn-Urobilins. — Versetzt man die schwach ammoniakalisch gemachte Lösung mit etwas Zinkchlorid, so erscheint augenblicklich ein schöner grüner Reflex, der durch geringe Mengen von Säuren aufgehoben, durch Alkalien zurückgerufen wird. Durch Schütteln mit Chloroform kann man der sauren wässerigen Lösung einen grossen Theil des Pigments entziehen, welcher nach dem Verdunsten des Lösungsmittels als ein schmutzig rother harziger Rückstand zurückbleibt, der sich, wenn alle anhaftende Säure entfernt ist, in Alkohol, Aether und Chloroform mit starker grüner Fluorescenz auflöst und einen dunklen Absorptionsstreifen δ im Spectrum erzeugt. Das Verhalten der Producte ist also in allen wesentlichen Punkten genau übereinstimmend mit dem Verhalten des aus dem Harn dargestellten Urobilin.

Ob in der Galle ausser dem Urobilin auch ein Chromogen vorkommt, habe ich bis jetzt noch nicht entscheiden können.

Ich erlaube mir zum Schluss die Resultate meiner bisherigen Untersuchungen in folgenden Sätzen zu resumiren:

1) Im Harn gesunder Menschen ist constant ein rother Farbstoff, das Urobilin, enthalten, der durch ein characteristisches Lichtabsorptionsvermögen ausgezeichnet ist und in dessen Lösungen unter gewissen Bedingungen eine starke grüne Fluorescenz hervorgerufen werden kann.

2) Dieser Stoff hat einen bald grösseren, bald geringeren Einfluss auf die Farbe des normalen Harns, welche zu einem grösseren Theile offenbar durch andere Pigmente bedingt ist.

3) Neben dem Urobilin kommt im normalen Harn häufig ein Chromogen dieses Körpers vor, dessen Umwandlung in Urobilin durch Sauerstoffaufnahme erfolgt.

4) Unter pathologischen Bedingungen, vorzüglich bei allen fieberhaften und denjenigen Zuständen, bei welchen ein sparsamer, concentrirter und dunkel gefärbter Harn entleert wird, kommt das Urobilin in einer die Norm weit übertreffenden Menge vor.

5) Das Urobilin stammt aus der Galle, deren constanter Bestandtheil es ist. — Ob es in einer genetischen Beziehung zu den anderen Gallenpigmenten steht, etwa durch Oxydation aus denselben hervorgeht, ist ungewiss.

6) Ob auch das Chromogen aus der Galle stammt, wie vielleicht angenommen werden kann, ist noch nicht entschieden worden.
