II. Beitrag zur Chemie des diabetischen Harns. (Eisenchloridreaction, Aceton, Diacetsäure).

Von

Dr. Richard Fleischer.

I. Assistenzarzt der medicinischen Klinik und Privatdocent
an der Universität Erlangen.

Nachdem zuerst von Petters¹⁾ bei einem schweren Fall von Diabetes mellitus, der mit starker Depression des Nervensystems verlief und sehr schnell letal endigte, das Auftreten von Aceton im Blut, im Harn und in der Expirationsluft festgestellt war, hat Kaulich²⁾ bei einer grossen Anzahl anderer Krankheitsformen (Variola, Morbilli, Malaria, Ileotyphus, Pneumonie etc.), welche mit Verdauungsstörungen complicirt waren, Acetongeruch des Harns beobachtet. Die beiden genannten Autoren sind der Ansicht, dass durch Secretion pathologisch veränderter Verdauungssäfte im Organismus die Bildung von Aceton begünstigt werde, welches nach der Annahme Kaulich's als Derivat des in abnormer Weise sich zersetzenden Zuckers aufzufassen ist.

Diese Beobachtungen wurden bestätigt und erweitert von

¹⁾ W. Petters, Untersuchungen über die Honigharnruhr. Prager Vierteljahresschrift 1857. XIV. 3.

²⁾ J. Kaulich, Ueber Acetonbildung im Thier-Organismus. Ibidem 1860. XVII. 3.

Burresi¹⁾, Betz²⁾ und Cantani³⁾, welch letzterer in „der Acetonaemie“ eine ganz besondere Krankheitsform aufgestellt hat. — Später war es dann Gerhardt⁴⁾, welcher bei einem Fall von Diabetes mellitus im frisch gelassenen Harn neben Alkohol Aceton nachwies und zugleich auf eine eigenthümliche Eigenschaft des betreffenden Harns, beim Zusatz von Eisenchlorid eine dunkel braunrothe Färbung anzunehmen, aufmerksam machte. Der Nachweis dieser Reaction neben dem des Acetons und Alkohols berechtigten im Zusammenhang mit der Thatsache, dass die von Geuther zuerst dargestellte Aethyldiacetsäure (und deren Salze) dieselbe Reaction zeigt und sich leicht in Aceton, Alkohol und Kohlensäure zersetzt, zu der Schlussfolgerung, dass ersteres durch Zersetzung dieser im Organismus gebildeten Säure entstanden sei und es schien damit ein neuer Gesichtspunkt für die Frage nach der Acetonbildung im thierischen Organismus gewonnen zu sein. Fernerhin fand Gerhardt, dass jene dunkelrothe Färbung bei der eminenten Mehrzahl anderer untersuchter Harne nicht entstehe, wohl aber bei dem Harn notorischer Säufer. Bei Diabetikern war der frisch gelassene Harn oft stundenweise frei von Diacetsäure, zu anderen Tagesstunden war die Reaction etwas schwächer, wurde nach längerem Stehenlassen des Harns stärker oder zeigte das umgekehrte Verhalten.

Dieselbe Reaction hat schon früher F. Th. Schultze⁵⁾ ebenfalls bei Diabetes mellitus beobachtet. Er leitet dieselbe von einem reichen Gehalt des Harns an Rhodan ab, welches er aus der durch Zersetzung des Blutzuckers entstandenen Ameisensäure in Verbindung mit Ammoniak sich bilden lässt. Die Reaction verschwand in diesem Fall nach der innerlichen Verabreichung von Chloroform vollständig. In neuerer Zeit hat dann Rupstein⁶⁾ das Vorkommen von Aceton im Harn bei Diabetes mellitus aufs Neue durch Elementaranalyse sicher gestellt und zugleich gefunden, dass die durch Eisenchlorid hervorgerufene Färbung durch Kochen und Salzsäurezusatz verschwindet und dass beim Erhitzen oder nach längerem Stehenlassen des Harns deutlicher Acetongeruch auftritt, die charakteristische Reaction aber nicht mehr eintritt. Setzte er zum Harn Essigsäure und schüttelte mit Aether aus, so erhielt er im Aetherrückstand tiefbraune Färbung mit Eisenchlorid, die ausblieb, wenn er den Harn für sich mit Aether behandelt. Bezüglich der Deutung des Körpers als Diacetsäure schliesst er sich ganz der Ansicht von Gerhardt an, und folgert aus seinen Versuchen, dass dieselbe im Harn an Salze gebunden sei.

Schliesslich hat Kussmaul⁷⁾ durch experimentelle Untersuchungen festgestellt, dass der schädliche Einfluss, den das Aceton auf den Organismus speciell auf das Centralnervensystem ausüben soll, entschieden überschätzt worden ist. Kaninchen, denen 2—3 Cubikcentimeter, Hunde, welchen 5—10 Cubikcentimeter reinen Acetons unter die Haut gespritzt waren, zeigten keine besondere Aenderung ihres Allgemeinbefindens. Phthisiker ertrugen 4—6 Cubikcentimeter pro die innerlich genommen längere Zeit hindurch ganz gut. Berücksichtigt man zugleich damit die Thatsachen, dass ganz geringe Mengen von Aceton zum Harn gesetzt demselben einen charakteristischen Geruch verleihen und dass grosse Mengen Harn (von Kaulich 30 Pfd., Gerhardt 45 Liter, Rupstein

Gesammtharn von 6 Wochen) verarbeitet werden mussten, um die zur Analyse nöthigen Mengen zu gewinnen, so erscheinen die Bedenken Kussmaul's gegen eine „Acetonaemie“ als besonderes klinisches Krankheitsbild völlig begründet.

Dadurch ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, dass bei einzelnen Formen des Diabetes mellitus eine chemische Verunreinigung des Blutes mit anderen Stoffen stattfinden kann, welche schädlicher wirkend als das Aceton bei einer Anhäufung im Organismus den bisher als Acetonaemie bezeichneten Symptomencomplex hervorrufen können und es war a priori nicht unwahrscheinlich, dass zu diesen (die Richtigkeit der Annahme Gerhardt's vorausgesetzt) die Aethyldiacetsäure gehöre.

Um dies zu eruiren, habe ich zuerst einige Versuche an Thieren angestellt:

„Die angewandte Diacetsäure ist wasserklar, mischt sich leicht mit Alkohol und Aether — langsamer aber auch vollständig mit Wasser — besitzt einen sehr angenehmen und charakteristischen Geruch nach Aepfeln, der auch in sehr starker Verdünnung der Säure mit Wasser nicht zu verkennen ist. Mit Eisenchlorid giebt sie noch in stark diluirtem Zustande eine schöne kirschrothe Färbung, die auf Salzsäurezusatz verschwindet.

Kaninchen, welchen 1—2 Cc. Diacetsäure — Hunde, denen 3,0, 5,0 u. 10,0 per os oder subcutan eingespritzt waren — zeigten ausser mässiger, schnell wieder schwindender Dyspnoe und leichter Benommenheit keine besonderen Störungen ihres Allgemeinbefindens. Die Expirationsluft roch in allen Fällen sehr bald nach der Application deutlich nach Diacetsäure. Der Harn war stets frei von Diacetsäure.

Schliesslich habe ich selbst zweimal 2,0 der Säure an verschiedenen Tagen innerlich genommen, ohne irgend einen Einfluss auf mein Wohlbefinden zu verspüren. Mein Harn zeigte die Eisenchloridreaction nicht, und enthielt kein Aceton.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass die Säure in ziemlich starker Dosis eine deletäre Einwirkung nicht ausübt, und ferner zum Theil sehr schnell von den Lungen abdestillirt (ebenso wie das Aceton cf. Kussmaul l. c.) zum Theil im Organismus vollständig zersetzt wird.

Angeregt durch einen interessanten Fall von Diabetes mellitus¹⁾, der auf der hiesigen medicinischen Klinik lange Zeit in Behandlung und bei welchem die prägnante Eisenchloridreaction des Harns constant bis einen Tag vor dem Tode nachweisbar war, habe ich in den letzten zwei Jahren alle diabetischen Harne, die ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, auf ihr Verhalten gegen Eisenchlorid geprüft.

Bei 14 verschiedenen Fällen (aus der Klinik, Poliklinik und Privatpraxis des Herrn Professor Leube) konnte ich 8 mal jene Reaction im Harn bald schwächer bald stärker nachweisen. Alle 8 Fälle betrafen schwere Formen von Diabetes. Die betreffenden Harne zeigten weder frisch gelassen, noch nach längerem Stehen Geruch nach Diacetsäure oder Aceton. Sie zersetzten sich meist sehr schnell an der Luft und nahmen dann den Geruch gährender Flüssigkeiten an, der mit dem charakteristischen Acetongeruch nichts gemein hat. Die Ansichten der Autoren über den specif. Geruch acetonhaltigen diabetischen Harns, der mit dem Geruch nach saurer Milch, Veilchen, Essigsäure, unreifer Aepfel, Ammoniak, Moschus, Aldehyd-Chloroform, gegohrenem Bier, Heu, frischem Brod etc. verglichen wird, gehen soweit auseinander, dass ich auf dieselben kein Gewicht legen möchte.

Die Eisenchloridreaction verschwand beim Kochen und Zusatz von Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure,

¹⁾ Burresi, Clinique medicale de Sienne. Sperimentale 1864. 1868.

²⁾ Memorabilien 1861, März.

³⁾ Cantani, Acetonaemie. Morgagni. 1864.

⁴⁾ C. Gerhardt, Ueber Diabetes mellitus und Aceton. Wiener med. Presse 1865, No. 28.

⁵⁾ F. Th. Schultze, ein Fall von Diabetes mellitus. Virchow's Archiv. 1854, VII. 3.

⁶⁾ F. Rupstein, Ueber das Auftreten des Acetons beim Diabetes mellitus. Med. Centralblatt. 1874. No. 55.

⁷⁾ Kussmaul, Zur Lehre vom Diabetes mellitus. Deutsches klinisches Archiv. 1874. XIV. 1.

¹⁾ Derselbe ist in der Inauguraldissertation von A. Drumm: „Ueber das Auftreten der Aethyldiacetsäure im Harn bei Diabetes mellitus“ genau beschrieben. Herr Professor Hilger hat die mit dem Harn ausgeschiedene Diacetsäure pro die quantitativ bestimmt. 100 Cc. wurden mit concentrirter Salzsäure versetzt bis auf $\frac{1}{2}$ Rückstand abdestillirt. Das Destillat wurde mit Kaliumhydroxyd und concentr. Lösung von Jod in Kaliumjodid versetzt, schwach erwärmt. Die ausgeschiedenen Jodoformcrystalle wurden gewogen und auf Aethyldiacetsäure berechnet. (3 Moleküle Jodoform — 1 M. Diacetsäure). (Liebig's Annalen der Chemie 1879.)

Weinsäure — nicht durch Einleiten von Kohlensäure). — Nie trat beim Erhitzen des Harns auf freiem Feuer oder dem Wasserbade Acetongeruch auf — die Reaction nahm allmählig bis zum völligen Verschwinden ab. Wurde der Harn für sich allein oder nach Zusatz von Säuren mit Aether ausgeschüttelt, so konnte ich niemals (abweichend von Rupstein's Versuchen) die Reaction mit dem Aetherrückstand erhalten. Nur einmal als der Harn nach Zusatz von Essigsäure mit Aether behandelt war, gab der Aetherrückstand braune Färbung mit Eisenchlorid (Essigsäurereaction) und roch stark nach Essigsäure.

Bei vier Fällen von Diabetes, die längere Zeit auf der medicinischen Klinik gelegen haben, konnte der Harn (der bei allen deutliche Eisenchloridreaction zeigte) genauer untersucht werden — und liess sich dabei ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Stärke der Reaction und der Ausscheidung von Zucker und Harnstoff nicht feststellen. Dagegen schien die Nahrung einige Mal einen gewissen Einfluss auszuüben. Bei einer Patientin, welche einige Tage auf absolute Fleischdiät gesetzt war, verschwand die Reaction vollständig. Bei einem anderen Kranken blieb beim Wechsel der Nahrung die Reaction nur auf einige Tage aus. In dem von Drumm beschriebenen Fall verschwand die Reaction am Tage vor dem Tode zugleich mit dem Zucker aus dem Harn. Im Leichenblut waren geringe Mengen rechtsdrehenden Zuckers — aber keine Diacetsäure, kein Aceton aufzufinden. —

Medicamente (Opium, Arsenik, Chinin, Carlsbadersalz) schienen die Bildung resp. Ausscheidung des fraglichen Körpers nicht zu beeinflussen.

Ich versuchte nun denselben aus dem Harn zu isoliren. Zu dem Zweck wurden grössere Mengen Harn mit und ohne Zusatz von Säuren und Alkalien in der Retorte destillirt. Nach längerem Kochen zeigte der ev. neutralisirte Retorteninhalte die Reaction nicht mehr — aber ebensowenig war dieselbe in dem stets brenzlich unangenehm riechenden Destillat nachzuweisen.

Der betreffende Körper war durch die Wärme vollständig zersetzt. — Eine Reindarstellung desselben nach anderen Methoden war ebenfalls ohne Erfolg.

Diese negativen Resultate veranlassten mich Controlversuche mit Harn, dem Diacetsäure zugesetzt war, und reiner Diacetsäure zu machen.

Es wurde zu normalem Harn solange reine Diacetsäure gesetzt, bis derselbe mit Eisenchlorid eine ebenso starke Reaction gab wie die früher untersuchten Harne. Der specifische Geruch des Harns verdeckte den Diacetsäuregeruch nicht. Eine Portion dieses Harns wurde nach der Ansäuerung mit Schwefelsäure mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherrückstand roch stark nach Diacetsäure und gab deren Reaction. Ein Theil derselben wurde mit Wasser aufgenommen und erst mit essigsaurem Kupfer — dann mit Kalilauge versetzt. Es bildete sich sofort in Wasser unlösliches diacetsaures Kupfer (durch Umsetzung des kohlensauren Kupfers mit diacetsaurem Natron), welches im Aether löslich sich aus demselben in zierlichen Crystallen ausschied und Eisenchloridreaction zeigte.

Eine zweite und dritte Portion des Harns wurde mit und ohne Zusatz von Säuren (Schwefelsäure, Salzsäure) destillirt. Die ersten Tropfen des Destillats rochen nach Diacetsäure und färbten sich mit Eisenchlorid schön roth.

Es findet also nicht, wie einzelne Autoren bei ihren Untersuchungen angenommen haben, eine Einwirkung verdünnter Mineralsäuren in der Siedhitze auf die Diacetsäure in der Weise statt, dass dieselbe unter Wasseraufnahme in Aceton, Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird, sondern sie geht leicht mit den

Wasserdämpfen in das Destillat über und kann auf diese Weise leicht und sicher aus diacetsäurehaltigem Harn isolirt werden. Wird dagegen Diacetsäureharn mit verdünnter Kalilauge gekocht, so ist im Destillat keine Säure wohl aber Aceton nachweisbar. Versuche mit reiner in Wasser gelöster Diacetsäure führten, wie vorausszusehen war, zu demselben Resultat.

Es wurden nun nach dem oben genannten Verfahren aus dem diabetischen Harn die Darstellung eines diacetsauren Kupfersalzes versucht, aber ohne Erfolg.

Setzt man zu dem diacetsäurehaltigen Harn und zu dem betreffenden diabetischen Harn Hefe und lässt beide Proben 24 Stunden im Verdauungsschrank stehen, so ist in dem ersteren die Eisenchloridreaction verschwunden (die Säure also zersetzt) im zweiten Harn nicht.

Alle diese Untersuchungen veranlassen mich anzunehmen, dass in den von mir beobachteten Fällen von Diabetes mellitus die Eisenchloridreaction des Harns nicht durch Diacetsäure bedingt wurde.

Es schien mir nun noch von Interesse, die diabetischen Harne auf ihren Acetongehalt zu prüfen. Zu dem Zweck wurden jedesmal 500 Cc. mit und ohne Säure- oder Alkalienzusatz auf $\frac{1}{3}$ abdestillirt. Das Destillat wurde noch einmal destillirt und alles bei 56° — 57° übergehende auf Aceton untersucht. Das noch sehr unangenehm riechende Destillat gab mit einer concentrirten Lösung von saurem schwefligsaurem Natron nach längerem Stehen einen crystallinischen Niederschlag (Acetonreaction) mit Kaliumhydroxyd, Jod und Jodkali reichliche Jodoformcrystalle (Ketone, Alkohol). Wurde ein Theil des Destillats mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure behandelt und dann destillirt, so enthielt das Destillat Ameisensäure, durch Quecksilberchlorid und salpetersaures Silber nachweisbar. — Es enthielten also, auch diese Harne unzweifelhaft Aceton. Auf dieselbe Weise wurden zwei andere diabetische Harne, welche die Eisenchloridreaction nicht gaben, ferner zwei andere, welche dieselbe sehr deutlich zeigten, behandelt und bei ihnen ausser Aceton auch Alkohol nachgewiesen.

Die Acetonreaction im Destillat wurde deutlicher, je länger die Harne gestanden hatten. Eine quantitative Bestimmung des betreffenden Körpers, bei welcher die durch Einwirkung des Acetons auf Jod Jodkaliumlösung erhaltenen Jodoformcrystalle auf Aethyldiacetsäure bezogen werden, dürfte kaum zu empfehlen sein, da bei der Destillation diabetischer Harne, welche die Eisenchloridreaction nicht zeigten, im Destillat ebenfalls Aceton nachweisbar war, und vor allem das Auftreten von Diacetsäure im Harn noch sehr fraglich ist. Es liegt der Gedanke nahe, der auch schon von anderer Seite ausgesprochen ist, dass das Aceton das Product einer besonderen Gährung des Zuckers ist und dass letztere im Organismus durch ein besonderes Acetonferment vermittelt wird. —

Leider ist es mir trotz mannigfacher Mühe nicht gelungen in dem Harn einen anderen Körper ausfindig zu machen, der jene Eisenchloridreaction veranlasst. Um Rhodanverbindungen kann es sich nicht handeln, da die Reaction in diesem Falle nicht durch Kochen und Salzsäurezusatz verschwinden würde. Hoffentlich gelingt es bei weiterer Untersuchung die Identität dieser vielleicht für den Stoffwechsel des Diabetiker ganz wichtigen Verbindung festzustellen. Von practischem Interesse ist vielleicht noch die Beobachtung, dass die Reaction bei leichteren Formen des Diabetes fehlte, während sie bei den schweren Fällen meist nachweisbar war.