

stoff in irgend einem Verhältnis zu stehen, Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und aus dem Hämatin durch Aufnahme von Wasser entstanden zu sein.

Kurzer Gang zum Nachweis von Blut im Harne und Wahl der Methode.

1. Man läßt eine größere Menge Harn in einem zylinderförmigen Glase mehrere Stunden stehen, gießt die klare Flüssigkeit ab und untersucht den etwa vorhandenen Bodensatz mit dem Mikroskope auf die Anwesenheit von Blutkörperchen, Blutzylinder.

2. Man stellt die altbewährte Hellersche Probe (Nr. 2) und dann Probe 4, die Teichmannsche Häminprobe, an.

3. Erfolgt die spektroskopische Prüfung, besonders wenn die vorerwähnten Proben keine positiven Resultate gaben.

35. Die Harnfarbstoffe.

Daß der normale mehr oder weniger gelb gefärbte Harn mehr als einen Farbstoff enthält, ist wohl als sicher anzunehmen, wenn auch diese Farbstoffe noch nicht alle eliminiert und charakterisiert werden konnten. — Außer den fertigen Farbstoffen (den präformierten) enthält der Harn noch eine Reihe sogenannter Chromogene, Farbstoffbildner, welche erst bei der Einwirkung der Luft, durch Oxydation, Farbstoffe erzeugen.

Am zweckmäßigsten wird man die Farbstoffe einteilen in solche, die im normalen Harne (in vermehrter Menge dann in pathologischen Harnen), in solche, die ausschließlich im pathologischen Harne vorkommen und in solche, die durch verschiedene Stoffe, Arzneien, gebildet werden.

I. Im normalen Harne vorkommende Farbstoffe.

Normaler Harn zeigt keine Absorptionsbänder, er absorbiert nur das Licht in verschiedenen Regionen des Spektrums mit ungleicher Stärke, und zwar wächst diese Absorption des Lichtes in der Richtung von Rot gegen Violett; doch kommen bei verschiedenen Harnen erhebliche Schwankungen vor. Der Farbstoff des normalen Harnes läßt sich durch Bleiacetat, durch Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure, wenn auch nicht vollständig, fällen und durch Tierkohle mehr oder weniger vollständig ausfärben.

A. Urochrom.

Als eigentlichen Farbstoff des Harnes müssen wir nach den Untersuchungen von A. E. Garrod¹⁾ das Urochrom betrachten, das dem Harn die gelbe Farbe erteilt und das in dem gefärbten Sedimente neben Uroerythrin stets vorhanden zu sein pflegt.

Das Urochrom scheint in naher Beziehung zum Urobilin zu stehen, da es bei vorsichtiger Oxydation in dieses übergeführt werden konnte.

Darstellung.

Die Darstellung, bei welcher nur ein geringer Teil gewonnen wird, beruht darauf, daß durch Ammonsulfat, mit dem der Harn gesättigt wird, Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin ausgefällt, das Urochrom aber zum größten Teil in Lösung gehalten und durch absoluten Alkohol (20—30 ccm : 100 ccm gesättigten Harn) entzogen werden kann.

Die alkoholische Lösung wird zur Reinigung in viel Wasser gegossen, mit Ammonsulfat gesättigt und die wieder abgeschiedene alkoholische Farbstofflösung mit festem Ammonsulfat unter schwachem Erwärmen entwässert, worauf man sie nach Zusatz von etwas Ammoniak (die Lösung muß alkalisch bleiben) auf dem Wasserbade erwärmt. Der zur Entfernung von Indoxylschwefelsäure mit Essigäther behandelte Rückstand wird wieder mit absolutem Alkohol stehen gelassen, dann eingengt und in ein gleiches Volumen Äther gegossen. Der amorph ausgefallene Farbstoff wird mit Äther gewaschen, der trockene Filterrückstand mit Chloroform, dann mit absolutem Alkohol behandelt und der zurückgebliebene Farbstoff in Wasser gelöst.

Eigenschaften.

Das in Wasser und in gewöhnlichem Alkohol leicht lösliche Urochrom ist braun, amorph. Seine Lösung zeigt spektroskopisch weder Absorption noch Fluoreszenz. Durch Säuren zersetzt es sich leicht unter Bildung von braunen oder schwarzen Farbstoffen; mit Aldehyd entsteht ein dem Urobilin nahe stehender oder ähnlicher Farbstoff.

¹⁾ *Proced. of the Roy. Soc.* 1894. 55. 394.

Die Entstehung brauner oder schwarzer Farbstoffe aus dem Harn durch Einwirkung von Säuren ist schon von Udránszky nachgewiesen worden und findet nun ihre Erklärung; ein Teil dieser Farbstoffe rührt aber, wie der genannte Forscher angegeben hat, auch von der Einwirkung der Säuren auf die Kohlehydrate unter Bildung von Huminsubstanzen her. Die von Udránszky gewonnenen Huminsubstanzen bildeten spröde, glänzende, schwarzbraune Blättchen, unlöslich in Wasser, in Alkohol, Äther und in Chloroform, leicht löslich in Amylalkohol, in konzentriertem Ammoniak, sehr leicht löslich in Kali- und Natronlauge. (Uromelanin.)

B. Uroerythrin (Purpurin).

Dieser Farbstoff bedingt die ziegelrote Färbung der Uratsedimente, des *sedimentum lateritium* und tritt sowohl im normalen Harn, reichlicher nach starkem Genuß von Speisen und besonders von Alkohol, nach starken Schweißen, besonders aber auch im pathologischen Harn bei Digestionsstörungen, bei Rheumatismus, bei Gicht, bei Malaria, bei Influenza, bei Erkrankungen der Leber, bei Fieberkrankheiten auf.

Darstellung.

Man verfährt am besten nach Garrod¹⁾ und verwendet das Sediment, da dieses weniger mit Hämatoporphyrin verunreinigt ist.

Das beim Stehen des Harnes abgeschiedene Uratsediment sammelt man auf einem Filter, löst es dann eventuell unter Erwärmen in etwas Wasser und fällt aus der Lösung den Farbstoff durch Chlorammonium aus; das abgeschiedene Uroerythrin wird wiederholt mit Chlorammoniumlösung zur Entfernung des Urobilins ausgewaschen, bis das Filtrat nicht mehr gefärbt ist. Filter mit Niederschlag bringt man in warmen Alkohol und digeriert einige Stunden im Dunkeln, filtriert, verdünnt die Alkohollösung mit dem doppelten Volumen Wassers und schüttelt zur Entfernung des Hämatoporphyrins mehrere Male mit Chloroform aus. Nun setzt man der Farbstofflösung einige Tropfen Essigsäure zu und schüttelt abermals mit Chloroform, das nun das Uroerythrin aufnimmt. Die mit Wasser gewaschene Chloroformlösung läßt man im Dunkeln verdunsten.

¹⁾ Journ. of Physiolog. 1895. 17. 439.

Nachweis.

1. Ein an diesem Farbstoffe reicher Harn zeigt meist eine auffallende matt orangerote Färbung.
2. Eine verdünnte alkoholische Lösung zeigt ein sehr charakteristisches Spektrum, ein Doppelband zwischen *D* und *E* bis *F* reichend, durch Schatten verbunden; eine konzentrierte Lösung absorbiert das ganze brechbare Ende des Spektrums. Die Lösungen fluoreszieren nach Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung nicht, wie Urobilin.

Charakteristisch ist, daß die Lösung bei Lichteinwirkung bald verblaßt und daß auch der Streifen bei *D* und *E* besonders leicht verschwindet.

3. Konzentrierte Schwefelsäure bewirkt karminrote, Alkalien (nicht Ammoniak) verursachen eine grüne (zuerst purpurne-blaue) Färbung.

Eigenschaften.

Das isolierte Uroerythrin ist amorph, rosa (krebssrot) gefärbt, leicht in Amylalkohol und in verdünntem Alkohol, schwer in Wasser löslich. Die Lösungen werden im Lichte bald gebleicht und zeigen die beim Nachweise angegebenen weiteren charakteristischen Eigenschaften.

C. Urospektrin.

Als eigentlichen Harnfarbstoff hält Sallet¹⁾ das Urospektrin. Genaueres ist jedoch über diesen Farbstoff noch nicht bekannt.

D. Urobilin.

Das Urobilin, von Jaffé zuerst aus dem Harn dargestellt, ist nach Sallet²⁾ im normalen Harn eigentlich nicht vorhanden, sondern entsteht erst unter der Einwirkung des Lichtes und des Luftsauerstoffes aus dem Chromogen, dem Urobilinogen. Die gelbe Harnfarbe ist nicht, wie manchmal angenommen wird, durch diesen Farbstoff bedingt. Spuren des gebildeten Urobilins (0,02—0,08 in der Tagesmenge) können im normalen Harn wohl vorhanden sein. Vermehrt ist das Urobilin

¹⁾ Rev. de med. 1896. 16. Nr. 7.

²⁾ Ebenda. 1897. 17. 114.

Ueber di

Frise
dessen Chr
mit Chlor
Oxydation
grüne Fluor
auch durch
Reagens in
Urobilinoge
keine deran
Urobilinoge
der Loschnu
eingehenden
chemischen
entstand ein
wurde getöte
erlitt erhebli
schen Fabrik
heim bei V
explosion, we
wurde lebens
Biermans
Hum der Pes
berichten zuf
Nähe von T
Ortskrankenk
verausgabte
und sonstige
Behandlung.
teute tritt, w
fällischen Be
Umfange au
notwendig g
schutzgesetz
nützig anerke
und der Ka
weiterer und
worden. —
weißzeugen
Charlottenbu

bei allen Krankheiten, durch welche ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlaßt wird, bei inneren Blutungen, bei Einwirkung blutzerstörender Gifte, bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten, bei Pyämie, Pneumonie, Skorbut, Malaria, bei Scharlach (im Gegensatz zu Diphtherie), ferner bei vermehrter Darmfäulnis, bei Gallenstauungen, bei Lebererkrankungen (Urobilinikterus), bei Bleikolik. Was die Entstehung und Bildung des Urobilins anbelangt, so erfolgt eine solche aus dem Blute und aus den Gallenfarbstoffen durch Bakterieneinwirkung auf das Bilirubin im Darne; hiefür spricht die Tatsache, daß das Urobilin beim Beginne oder beim Ausgange von Ikterus wesentlich vermehrt ist und daß Harn, der

Ueber die Trennung des Urobilins von seinem Chromogen.

Von L. Grimbert.

Frischer Harn enthält bekanntlich kein freies Urobilin, sondern dessen Chromogen, das Urobilinogen, welches beim Schütteln des Harns mit Chloroform in diesen übergeht und nach vorausgegangener Oxydation zu Urobilin mittels alkoholischer Zinkacetatlösung durch die grüne Fluoreszenz nachgewiesen werden kann. Man kann das Urobilinogen auch durch Erhitzen seiner Chloroformlösung mit dem Ehrlichschen Reagens in Gegenwart von Alkohol erkennen; bei Anwesenheit von Urobilinogen färbt sich die Flüssigkeit purpurrot, während freies Urobilin keine derartige Färbung gibt. Schüttelt man eine Chloroformlösung von Urobilinogen mit einer gegen Phenolphthalein neutralen Lösung von der Lösung des Brandes tätig gewesen, dabei eingehenden Desinfektion unterziehen. — In der chemischen Fabrik von Mühling in Breslau entstand eine heftige Explosion. Ein Arbeiter wurde getötet, der Besitzer Herr Dr. Mühling erlitt erhebliche Verletzungen. — In der chemischen Fabrik von Dr. Wagner in Pfifflichheim bei Worms ereignete sich eine Kessel-Explosion, wodurch Feuer ausbrach. Ein Arbeiter wurde lebensgefährlich verletzt. — Die Ärzte Dr. Biermans und Gothein, die sich zum Studium der Pest in China befinden, haben Zeitungsberichten zufolge bei einem Eisenbahnunfall in der Nähe von Tetschau Beinbrüche erlitten. — Die Ortskrankenkasse für Leipzig und Umgegend verausgabte im Jahre 1910 799 918 M. für Arznei und sonstige Heilmittel, 1 490 617 M. für ärztliche Behandlung. — Die Wurmkrankheit der Bergleute tritt, wie die Zeitungen berichten, im westfälischen Bergrevier wieder in vermehrtem Umfange auf und hat neue Untersuchungen notwendig gemacht. — Auf Grund des Quellschutzgesetzes ist zum Schutze der als gemeinnützig anerkannten Quellen des Rhenser Sprudels und der Kaiser-Ruprechtquelle in Rhens ein weiterer und ein engerer Schutzbezirk errichtet worden. — Wegen wiederholter Diebstähle von Reißzeugen in der Technischen Hochschule in Charlottenburg wurde der rumänische Student

1
8
1
h
-
-
r
ad
ed
er
b-
n
m
er
it
n,

neutralen Lösung von in die wässrige Flüssig- wird das Urobilinogen, wenn man stark verdünnen 10% iger Natronlauge. Der letzteren Lösung ansäuern mit Phosphorsäure. Den Harn mit Chloroform versetzt das erliche Zinkacetatlösung, verschwinden ist. Eine Urobilin an. In diesem Zentimetern einer Phenolatlösung ausgeschüttelt. Zinkacetat keine Fluoreszenz, wenn das Chloroform entfernt (152, 727—28.)

Scheidetrichter abgelassene Scheidetrichter behandelt flüssig vorsichtig verdünnen fällt man mit Urobilin auf einem Asbestfilter in Chloroform und ver-

Zur Bestimmung von Urobilin im Harn

wird von M. C. Carrez ein neues Verfahren vorgeschlagen, das wie folgt ausgeführt wird: 45 ccm Urin werden zunächst mit 30 ccm einer sauren Quecksilbersulfatlösung nach Denigès versetzt und nach dem Umschütteln filtriert. 50 ccm des Filtrates werden mit 1,0 Talkum geschüttelt und gleich filtriert, der Talk, der das Urobilin absorbiert hat, wird mit Wasser ausgewaschen und auf dem Filter mit dem Reagens von Oliviero (Zinc. chlorat. 10,0, Liqu. ammon. caust. q. s. ad. solut., Spiritus 90 proz. 80,0, Aether acet. 20,0) behandelt. Bei Anwesenheit von Urobilin erhält man sogleich eine schön grün fluoreszierende Flüssigkeit. Man kann auch so verfahren, daß man den Talk mit 10 ccm mit Salzsäure angesäuerten Alkohols behandelt, das Filtrat im Scheidetrichter mit 5 ccm Chloroform nach Zugabe von 100—150 ccm Wasser durchschüttelt. Setzt man zum Chloroform nun nach dem Abtrennen und Filtrieren tropfenweise eine alkoholische Lösung von Zinkacetat 1:1000,0, so erscheint bei Anwesenheit von Urobilin ebenfalls eine schön grüne Fluoreszenz. (Répert. de Pharmacie 1911, Nr. 4.)

der Löschung des Brandes tätig gewesen, einer eingehenden Desinfektion unterziehen. — In der chemischen Fabrik von Mühling in Breslau entstand eine heftige Explosion. Ein Arbeiter wurde getötet, der Besitzer Herr Dr. Mühling erlitt erhebliche Verletzungen. — In der chemischen Fabrik von Dr. Wagner in Pfiffelgheim bei Worms ereignete sich eine Kessel-explosion, wodurch Feuer ausbrach. Ein Arbeiter wurde lebensgefährlich verletzt. — Die Ärzte Dr. Biermans und Gothein, die sich zum Studium der Pest in China befinden, haben Zeitungsberichten zufolge bei einem Eisenbahnunfall in der Nähe von Tetschou Beinbrüche erlitten. — Die Ortskrankenkasse für Leipzig und Umgegend verausgabte im Jahre 1910 799 918 M. für Arznei und sonstige Heilmittel, 1 490 617 M. für ärztliche Behandlung. — Die Wurmkrankheit der Bergleute tritt, wie die Zeitungen berichten, im westfälischen Bergrevier wieder in vermehrtem Umfange auf und hat neue Untersuchungen notwendig gemacht. — Auf Grund des Quellenschutzgesetzes ist zum Schutze der als gemeinnützig anerkannten Quellen des Rhenser Sprudels und der Kaiser-Ruprechtquelle in Rhens ein weiterer und ein engerer Schutzbezirk errichtet worden. — Wegen wiederholter Diebstähle von Reißzeugen in der Technischen Hochschule in Charlottenburg wurde der rumänische Student

Ueber die Trennung des Urobilins von seinem Chromogen. Von L. Grimb^{er}t.

Frischer Harn enthält bekanntlich kein freies Urobilin, sondern dessen Chromogen, das Urobilinogen, welches beim Schütteln des Harns mit Chloroform in diesen übergeht und nach vorausgegangener Oxydation zu Urobilin mittels alkoholischer Zinkacetatlösung durch die grüne Fluoreszenz nachgewiesen werden kann. Man kann das Urobilinogen auch durch Erhitzen seiner Chloroformlösung mit dem Ehrlichschen Reagens in Gegenwart von Alkohol erkennen; bei Anwesenheit von Urobilinogen färbt sich die Flüssigkeit purpurrot, während freies Urobilin keine derartige Färbung gibt. Schüttelt man eine Chloroformlösung von Urobilinogen mit einer gegen Phenolphthalein neutralen Lösung von Dinatriumphosphat, so geht das Chromogen nicht in die wässrige Flüssigkeit über, wohl aber freies Urobilin. Andererseits wird das Urobilinogen von der wässrigen Flüssigkeit glatt aufgenommen, wenn man stark verdünnte Natronlauge oder eine mit einigen Tropfen 10% iger Natronlauge versetzte Dinatriumphosphatlösung verwendet. Der letzteren Lösung wird das Urobilinogen nach vorausgegangenem Ansäuern mit Phosphorsäure durch Schütteln mit Chloroform wieder entzogen.

Zur Ausführung der Trennung schüttelt man den Harn mit Chloroform aus, filtriert den Auszug durch trockene Watte und versetzt das

Filtrat tropfenweise mit einer 0,1% igen, alkoholischen Zinkacetatlösung, bis die anfangs entstandene Trübung wieder verschwunden ist. Eine grüne Fluoreszenz zeigt die Gegenwart von freiem Urobilin an. In diesem Falle wird das Chloroform mit einigen Kubikzentimetern einer Phenolphthalein gegenüber neutralen Dinatriumphosphatlösung ausgeschüttelt. Das abgetrennte Chloroform gibt jetzt mit Zinkacetat keine Fluoreszenz mehr, wohl aber auf Zusatz einer Spur Jod, wenn das Chloroform Urobilinogen enthält.

(Compt. rendus 152, 727—28.)

ausfallende Amylose nahezu die Gesamtmenge des Amylopektins mit nieder.
(Compt. rendus 152, 785—88.)

Ueber einen neuen pflanzlichen Farbstoff. Das Thujorhodin.

Von Tsvett.

Die Blätter der Thujaceen und verschiedener anderer Coniferen erleiden im Winter eine teilweise Verfärbung, indem der der Sonne zugekehrte Teil braun oder rot wird. Diese Erscheinung ist nicht auf eine Modifikation des Chlorophylls, sondern auf eine Neubildung eines roten Farbstoffes, welchen Verfasser Thujorhodin nennt, zurückzuführen. Die Lösung dieses Farbstoffes in Schwefelkohlenstoff ist rot, in Alkohol rosa, in Petroläther gelb. Das Absorptionsspektrum der Schwefelkohlenstofflösung besitzt 4, dasjenige der Petrolätherlösung 3 Bänder. Durch konzentrierte Schwefelsäure wird das Thujorhodin indigoblau gefärbt, durch Aetzkalkalien nicht verändert. Das Thujorhodin findet sich außerdem in den roten Blättern von *Cryptomeria japonica* und zwar in großer Menge, ferner in den Blättern von *Cupressus Naitnocki*, *Retinospora plumosa*, *Juniperus virginiana* und *Taxus baccata*, obgleich die letzteren grün bleiben.

(Compt. rendus 152, 788—89.)

Methode haftet ein Mangel an, der sich aber bei vorsichtigem Arbeiten

bei allen Krankheiten, durch welche ein Zerfall der roten Blutkörperchen veranlaßt wird, bei inneren Blutungen, bei Einwirkung blutzerstörender Gifte, bei allen akuten fieberhaften Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten, bei Pyämie, Pneumonie, Skorbut, Malaria, bei Scharlach (im Gegensatz zu Diphtherie), ferner bei vermehrter Darmfäulnis, bei Gallenstauungen, bei Lebererkrankungen (Urobilinikterus), bei Bleikolik. Was die Entstehung und Bildung des Urobilins anbelangt, so erfolgt eine solche aus dem Blute und aus den Gallenfarbstoffen durch Bakterieneinwirkung auf das Bilirubin im Darne; hiefür spricht die Tatsache, daß das Urobilin beim Beginne oder beim Ausgange von Ikterus wesentlich vermehrt ist und daß Harn, der ikterisch gefärbt ist und der die sonstigen äußeren Merkmale eines ikterischen Harnes (gelben Schaum u. s. w.) zeigt, nur Urobilin enthalten kann.

Das Vorkommen größerer oder geringerer Urobilinmengen im Harne ist von wesentlicher diagnostischer Bedeutung, es zeigt uns starke Darmfäulnis und einen stärkeren Zerfall von Blutkörperchen an.

Darstellung und quantitative Bestimmung.

1. Man gewinnt das Urobilin aus dem Harne gewöhnlich nach dem von Méhu und Hoppe-Seyler angegebenen Verfahren.

100—500 ccm Harn werden je nach der Menge des vorhandenen Urobilins mit 0,2—1 g Schwefelsäure angesäuert und mit Ammonsulfat (auf 100 ccm Harn 30 g) gesättigt; es wird nach mehrstündigem Stehen filtriert, das auf einem Filter (Asbestfilter) gesammelte, in roten Flocken abgeschiedene Urobilin mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und dann zweimal mit einer aus gleichen Teilen Alkohol und Chloroform hergestellten Mischung extrahiert. Die in einen Scheidetrichter durch ein Asbestfilterchen filtrierte Farbstofflösung wird mit dem doppelten Volumen Wassers geschüttelt und gewaschen, das klar abgesetzte und aus dem Scheidetrichter abgelassene Chloroform nochmals mit Wasser im Scheidetrichter behandelt und die filtrierte Chloroformfarbstofflösung vorsichtig verdunstet. Die konzentrierte Chloroformlösung fällt man mit Äther, sammelt das ausgeschiedene Urobilin auf einem Asbestfilterchen, löst den Farbstoff wieder in Chloroform und ver-

dunstet in einem vorher gewogenen Glasschälchen oder Kölbchen bei mäßiger Wärme — am besten aber bei gewöhnlicher Temperatur — das Chloroform, worauf man nach mehrstündigem Stehen des Schälchens im Exsikkator den Farbstoff wägt.

Beurteilung.

Nach Versuchen von F. Müller und Huppert unterläßt man besser das Ansäuern mit Schwefelsäure, um nicht das Urochrom zu zersetzen; weiter entfernt man zweckmäßig zuerst die Harnsäure, das Hämatoporphyrin, sowie Gallenfarbstoffe ähnlich der Huppertschen Probe beim Gallenfarbstoffnachweise.

Der Harn (100—200 ccm) wird mit alkalischer Chlorbaryumlösung (auf 100 Teile Harn 30 Teile einer Mischung von 1 Vol. gesättigter Baryumchloridlösung und 2 Vol. gesättigten Barytwassers) versetzt, filtriert, zum Filtrate konzentrierte Natriumsulfatlösung zur Entfernung des überschüssigen Baryts zugesetzt, mit Schwefelsäure nahezu neutralisiert und das Filtrat mit Ammonsulfat gesättigt. Der abfiltrierte mit gesättigter Ammonsulfatlösung einmal behandelte Farbstoffniederschlag wird aus dem lufttrockenen Filter nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit einer Mischung von 1 Teil Äther und 2 Teilen Alkohol in der Wärme ausgezogen, die Lösung im Scheidetrichter mit Chloroform und dann mit dem doppelten Volumen Wassers geschüttelt und die Lösung des Urobilins im Chloroform nach dem Absitzen abgelassen. Dieser Lösung, die noch 1—2 mal mit Wasser zu waschen ist, wird das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser (ja nicht zu viel Ammoniak) entzogen, wobei auch eine Trennung vom Indigorot erzielt wird, und aus der ammoniakalischen Lösung das Ammoniak vorsichtig verdunstet. Aus der ammoniakalischen Lösung kann das Urobilin durch Zusatz von Säure gefällt und der gefällte Farbstoff in Chloroform gelöst werden. Dieses wird verdunstet. — Zu bemerken ist noch, daß das Urobilinogen auch hierbei gefällt wird; auch sind Verluste an Farbstoff, der besonders auch im Filtrierpapier — ich nehme Asbestfilter, den Goochschen Tiegel — zurückgehalten wird, nicht zu vermeiden.

2. Darstellung nach Jaffé.

Der mit Ammoniak schwach alkalisch gemachte Harn wird vom entstandenen Niederschlag abfiltriert und zum Filtrate eine konzentrierte alkoholische oder wässrige Chlorzinklösung zugesetzt. Die bei Urobilinanwesenheit schön rot oder rotbraun gefärbten Niederschläge werden mit kaltem und dann heißem Wasser ausgewaschen, bis kein Chlor mehr nachweisbar ist und mit Alkohol ausgekocht. Nach dem Trocknen werden die gepulverten Niederschläge in Ammoniak gelöst und diese Lösung mit Bleizucker ausgefällt. Den Niederschlag filtriert man ab, wäscht denselben mit Wasser aus, bis sich Farbstoff zu lösen beginnt und digeriert den getrockneten Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol; diese alkoholische Lösung wird mit dem halben Volumen Chloroform und viel Wasser kräftig geschüttelt, die Chloroformlösung mit wenig Wasser gewaschen (es geht leicht Farbstoff ins Wasser!) und das Chloroform ab-

destilliert. Der Rückstand wird mit Äther noch gereinigt, der eine Menge fremder Stoffe aufnimmt und Urobilin hinterläßt.

Urobilinarme Harne werden nach Jaffé mit Bleiessig gefällt und der abfiltrierte, ausgewaschene und getrocknete Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol ausgekocht, worauf man die Lösung mit Ammoniak übersättigt und mit Chlorzink versetzt; weitere Behandlung, wie vorstehend angegeben.

Beurteilung.

Man erhält mit diesem Verfahren reine Präparate, erleidet aber Verluste an Farbstoff.

3. Um das fertig gebildete Urobilin neben dem Urobilinogen nachzuweisen, bedient man sich des von Salliet angegebenen Verfahrens.

100 ccm des frischgelassenen, im Dunkeln verwahrten Harnes werden mit 10 Tropfen Eisessig versetzt und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt; den abgelassenen Essigäther verwendet man zum Ausschütteln neuer Harnanteile, indem man das fehlende Volumen an Essigäther neu dazugibt. Der Essigäther wird mit wenig Wasser geschüttelt, das vorhandene Urobilin aufnimmt und sich braun färbt; das vorhandene Urobilinogen wird durch Stehenlassen der Essigätherlösung im Sonnenlichte in Urobilin übergeführt und ebenfalls wiederholt mit Wasser nach Zusatz von etwas Essigsäure ausgeschüttelt. Das Urobilin kann man durch Chloroform extrahieren oder durch Ammonsulfat, wie angegeben, ausfällen.

Beurteilung.

Der Harn darf kein Eiweiß enthalten; selbstverständlich hat man unter Ausschluß des Sonnenlichtes zu arbeiten.

Nachweis.

Das Urobilin läßt sich nur an seinem spektroskopischen Verhalten und durch die Fluoreszenzprobe erkennen; an Urobilin reicher Harn zeigt dunkle, rote, braunrote Färbung. Solchen Harn prüft man auch auf die Anwesenheit von Leucin und Tyrosin.

1. Man untersucht den filtrierten und eventuell verdünnten sauren Harn nach Zusatz von etwas Schwefelsäure direkt mit dem Spektroskope; verdünnte saure Lösungen

zeigen einen Absorptionsstreifen an der Grenze von Grün und Blau zwischen den Linien *E* und *F*; wird die Lösung alkalisch gemacht (mit Kalilauge), so wird das Absorptionsband wieder schärfer begrenzt und rückt mehr nach Grün nach der Linie *E* zu (Spektraltafel).

Normale Harne geben keine Absorptionsspektren, dagegen solche bei Fieber, bei Leberstörungen, nach Einnehmen von Antifebrin.

Zu berücksichtigen ist, daß Harne manchmal erst nach längerem Stehen und auf Säurezusatz die Absorptionsstreifen erkennen lassen. Deswegen säuert man mit Säure an; Harne, die noch andere Farbstoffe in reichlicherer Menge enthalten, können nicht direkt verwendet werden. Man hat dann das Urobilin erst zu isolieren. (3—5.)

2. Fluoreszenzprobe.

Man versetzt den Harn mit einigen Tropfen (5) 10 % Chlorzinklösung und fügt Ammoniak hinzu, bis der entstandene Niederschlag beim Umschütteln sich löst. Die Lösung zeigt schön grüne Fluoreszenz; besonders hier tritt der Absorptionsstreifen sehr schön auf.

3. Zweckmäßig, zumal bei geringen Urobilinmengen, schüttelt man 50 ccm Harn nach dessen Ansäuern mit einigen Tropfen Salzsäure mit 25 ccm Amylalkohol aus und untersucht die Amylalkohollösung spektroskopisch und nach Zusatz einiger Tropfen einer filtrierten Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol; sehr schöne grüne Fluoreszenz und Absorptionsstreifen.

Ist eine Emulsion entstanden, dann filtriert man durch ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter, man erhält im Filtrate dann die zwei getrennten Schichten.

4. Verfahren nach Jolles.

50 ccm Harn werden mit 5 ccm verdünnter Kalkmilch und 100 ccm Chloroform mehrere Minuten in einem Zylinder geschüttelt; den Bodensatz von Chloroform und den Niederschlag läßt man in eine Porzellanschale abfließen, dampft ein und verreibt den Rückstand mit 5 ccm etwa 30 % Alkohols und einigen Tropfen Salpetersäure, worauf man filtriert. Typisches Urobilin gibt dabei ein braun- bis granatrotes Filtrat, dessen Spektrum den Urobilinastreifen in scharfer Begrenzung zeigt.

Beurteilung.

Durch diese Isolierungsart werden normale Farbstoffe entfernt.

5. Th. Roman und G. Delluc¹⁾ schütteln 100 ccm Harn nach dem Ansäuern mit 8—10 Tropfen Salzsäure mit 20 ccm Chloroform vorsichtig aus. 2 ccm der nötigenfalls durch ein Asbestfilterchen filtrierten Chloroformlösung werden mit 2 Volumen einer alkoholischen Zinkacetatlösung (1 g Zinkacetat cryst. in 1000 ccm reinsten Alkohols gelöst) überschichtet (Zonenreaktion). Es entsteht an der Berührungsstelle eine grüne Zone (besonders deutlich bei auffallendem Lichte gegen schwarzen Hintergrund); beim Umschütteln teilt sich die grüne Fluoreszenz der ganzen Flüssigkeit mit, die bei durchfallendem Lichte rosenrot ist.

Beurteilung der Methoden zum qualitativen Nachweise.

Gelingt der Nachweis nicht, so hätte man aus größeren Harnmengen den Farbstoff zu isolieren; übrigens wäre dies ein Zeichen, daß Urobilin in sehr vermehrter Menge nicht vorhanden ist. Am sichersten sind die Proben 3, 4 und 5.

In stark pigmentierten, gallenfarbstoffhaltigen Harnen gelingt der spektroskopische Nachweis schwer oder gar nicht; man beseitigt durch eine Merkurisulfatlösung (5 g HgO, 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser) die störenden Farbstoffe, indem man zu 10 ccm Harn 5 ccm der Lösung gibt und das klare Filtrat zur spektroskopischen Prüfung verwendet (Denigès).

Quantitative Bestimmung.

Außer der bei der Darstellung (S. 361) angegebenen Bestimmung des Urobilins durch Wägen des isolierten Farbstoffes kann man die Menge desselben auch annähernd bestimmen und zwar durch Vergleich der Chloroformlösung des isolierten Urobilins mit einer Lösung von bestimmtem Urobilinhalt, nach Art der Indikanbestimmung.

Man isoliert den Farbstoff nach F. Müller und Huppert, wie S. 362 erwähnt und löst das aus der ammoniakalischen Lösung durch Säure gefällte Urobilin in einem bestimmten Volumen Chloroform.

Eigenschaften.

Das Urobilin ist amorph, zeigt in dünnen Schichten rosenrote, in dicken bräunlichrote Färbung, im auffallenden Lichte

¹⁾ Journ. Pharm. Chim. 1900. 6. Ser. 12. 49.

lebhaft gelbgrünen Metallglanz, wie Rosanilinsalze. Es löst sich wenig in Wasser, leicht in Alkohol, in Äther und in Chloroform, in wässriger Alkalilauge und in Ammoniak, damit in Wasser und in Alkohol leicht lösliche Salze bildend. Die neutralen Lösungen sind gelb bis gelbrot, die alkalischen mehr gelb, die sauren rosa bis bräunlichrot. Durch basisch essigsaures Blei, durch Ammonsulfat, auch durch Chlorzinklösung wird der Farbstoff gefällt; die ammoniakalische Lösung fluoresziert; durch Chlorzink und andere Zinksalze zeigt sich diese grüne Fluoreszenz auch bei starker Verdünnung sehr vermehrt. Spektroskopisch zeigen die Lösungen die erwähnten charakteristischen Absorptionsstreifen.

Die Quecksilberverbindung hat eine schön rosenrote Farbe; Kupferoxydsalze (auch Kobalt- und Nickelsalze) geben in alkalischer Lösung eine der Biuretreaktion ähnliche Färbung; das Kupfersalz ist in Chloroform mit karminroter Farbe löslich.

E. Das Urobilinogen.

Das Urobilinogen, das erst nach Einwirkung von Sonnenlicht und Luft zu Urobilin wird, ist farblos und zeigt spektroskopisch kein charakteristisches Verhalten; es löst sich in Essigäther, Chloroform u. s. w. wie das Urobilin; nur von Wasser wird es aus der Essigätherlösung nicht aufgenommen, dagegen von Ammonsulfat auch gefällt.

Nachweis (s. S. 363).

F. Urorosein.

Das Urorosein kommt nach Nencki und Sieber als Chromogen im Harn vor und findet sich nach Rosin in geringer Menge in jedem Harn, nach den Erstgenannten nur im pathologischen Harn bei Diabetes, bei Chlorose, bei Typhus, bei Nephritis, bei Carcinoma ventriculi.

Nachweis.

1. Durch Einwirkung von Salzsäure, schneller von Salpetersäure oder Salzsäure mit sehr wenig Chlorwasser auf den Harn tritt zumal im chromogenreichen Harn eine rote Farbe ein; beim Schichten von Harn auf Salpetersäure entsteht ein rosenroter Ring, der allerdings auch von Indigorot herrühren kann (S. 367).

2. Schüttelt man den beim Ansäuern mit 0,1 Volumen 25 % Schwefelsäure oder Salzsäure rosenrot gewordenen Harn mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff auf. Diese Lösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* im Grün. In größerer Menge erhält man den Farbstoff, wenn man größere Mengen Harn konzentriert, diese ansäuert und den Farbstoff auf entfetteter Wolle, nach reichlichem Zusatz von essigsaurem Natron, fixiert. Aus der Wolle gewinnt man den Farbstoff durch Auskochen mit schwefelsäurehaltigem Alkohol.

Beurteilung.

Unerläßlich ist die spektroskopische Prüfung. Die Trennung von Indigorot s. S. 368.

Eigenschaften.

Der Farbstoff löst sich mit roter Farbe in Wasser, in saurem Alkohol, in Amylalkohol, er ist unlöslich in Chloroform, in Äther (Unterschied von Indigorot), in Benzol. Alkalien entfärben die rote Farbe sofort — Unterschied von Indigorot —; durch Säuren wird die rote Farbe wieder hergestellt. Der Farbstoff ist sehr unbeständig und wird auch durch Fäulnis zerstört.

G. Indigoblau — Indikan (S. 268).

H. Indigorot (Indirubin, Urorubin, Indigpurpurin)
 $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

H. Rosin¹⁾ schon hat gefunden, daß der in den meisten normalen und pathologischen Harnen bei der Behandlung mit Salzsäure und beim ununterbrochenen Kochen dieser Harne sich bildende rote Farbstoff, der auch schon von Rosenbach beobachtet wurde, mit dem pflanzlichen Indigrot (Indirubin), welcher nach Baeyers Untersuchungen dem Indigblau isomer ist, die größte Übereinstimmung zeigt. Rosin hält das dem Indigoblau isomere Indigorot für ein Produkt der Wärmewirkung und betrachtet als Muttersubstanz des roten Farbstoffes in den meisten Fällen die Indoxylverbindung des Urins, welche durch Spaltung mit folgender Oxydation in zwei isomere Substanzen, in das Indigoblau und Indigorot, übergehen.

¹⁾ Virchows Archiv. 1891. 123. 519. 538.

Diese Anschauung Rosins hat durch die Versuche von L. Maillard, von Bouma (S. 272, 274, 278) ihre vollständige Bestätigung gefunden. Maillard hat nachgewiesen, daß das Indigorot aus den Indoxylverbindungen bei langsamer, das Indigoblau bei augenblicklicher Oxydation entsteht und somit eine Modifikation des Indigoblaus darstellt.

Darstellung.

Hiezu müssen große Mengen Harn Verwendung finden. Indikanreicher Harn wird in Portionen zu ca. 5 Liter mit Bleiessig ausgefällt und filtriert, aus dem Filtrate das überschüssige Blei durch Salzsäure entfernt und die filtrierte Lösung nach dem Versetzen mit Salpetersäure (auf 1 Liter ca. 20 g) zum Kochen erhitzt, bis eine dunkel kirschrote Färbung eingetreten ist, worauf man schnell abkühlt und mit Soda die freie Säure möglichst neutralisiert, so daß nur mehr schwach saure Reaktion vorhanden ist. Man filtriert die aus den verschiedenen Harnportionen auf diese Weise ausgeschiedenen Farbstoffe durch das gleiche Filter ab, wäscht dieses mit Sodalösung und Wasser aus und extrahiert es nach dem Trocknen mit Chloroform am Rückflußkühler auf dem Wasserbade mehrere Male, bis die Chloroformlösung sich blau färbt. Man destilliert aus diesen Chloroformauszügen das Chloroform so weit ab, bis Indigorot sich ausscheidet, das nach dem Erkalten der Lösung abfiltriert und mit kaltem Chloroform so lange gewaschen wird, bis die Braunfärbung verschwunden ist und das Chloroform sich rot färbt. Der Rückstand wird nun behufs Reinigung mit Äther am Rückflußkühler gekocht, wobei Indigorot in Lösung geht, aus welcher der Äther bis zur Abscheidung von Kristallen abdestilliert wird. Die Kristalle werden nach 1 – 2 tägigem Stehen abfiltriert und nochmals umkristallisiert.

Nachweis des Indigorot.

Man neutralisiert zum Nachweise des freien Indigorots den Harn mit Soda, schüttelt mit Äther aus, wobei Urorosein ungelöst bleibt und verdunstet die rot gefärbte Ätherlösung. Der Rückstand muß sich in Alkohol mit schön roter Farbe lösen, die beim Erwärmen mit Traubenzucker und Alkali verschwindet, beim Schütteln an der Luft aber wieder rot wird (Rosin).

Der Skatolfarbstoff von Brieger löst sich in saurem Harne zum Unterschiede von dem Indigorot nicht in Äther, auch nicht in Chloroform, nur von Amylalkohol wird er aus der sauren Lösung aufgenommen.

Eigenschaften.

Der Farbstoff kristallisiert in chokoladebraunen sternförmigen Nadeln oder Blättchen mit Kupferglanz, die mit violettroten Dämpfen sublimieren (295—310°).

Das Indirubin ist unlöslich in Wasser, in verdünnten Säuren und Alkalien, löslich in Alkohol, in Äther, in Chloroform, in Benzol, in heißen fetten Ölen u. s. w. mit roter Farbe. Die alkoholische Lösung zeigt einen Streifen im grüngelben Teile des Spektrums. Es ist bei der Oxydation beständiger, als das Indigoblau; in alkalischer Lösung wird es durch Zinkstaub, Traubenzucker u. s. w. zu farblosem Indirubinweiß reduziert.

I. Skatolrot (S. 279).

J. Urohämatin.

Urohämatin ist ein eisenhaltiger, roter Körper aus dem Harne, der nur in Alkohol, in Äther, in Chloroform und in ätzenden Alkalien löslich ist und aus dem konzentrierten und dann mit Alkohol extrahierten Harne durch Füllen mit Kalkmilch in der Siedehitze gewonnen wird. Der Rückstand wird mit Wasser und Alkohol gewaschen, mit Salzsäure zerlegt und dann wieder mit Alkohol ausgezogen. Beim Schütteln der alkoholischen Lösung mit Äther geht in letzteren der Farbstoff, der aber ohne klinische Bedeutung ist.

K. Giacosas Farbstoff.

Dieser Farbstoff ist ein Chromogen, nach Giacosa¹⁾ verwandt mit Urohämatin. Das Chromogen kann durch Amylalkohol ausgeschüttelt und durch Bleiessig größtenteils gefällt werden.

Darstellung.

Man fällt mit Bleizucker, entfernt das Blei durch Schwefelwasserstoff, diesen durch Erhitzen und schüttelt die mit 0,8 Volumen Salzsäure (1,19 spez. Gew.) versetzte und rot gewordene Flüssigkeit mit Amylalkohol aus. Der Amylalkohol wird mit Wasser gewaschen, dann abdestilliert und der Rück-

¹⁾ Berl. Berichte. 1887. 20. 393 (Ref.).

stand mit warmem Wasser und Ammoniak (zur Entfernung von Urobilin) behandelt. Man trocknet, löst den Farbstoff in wasser- und alkoholfreiem Äther und verdunstet die Lösung.

Eigenschaften.

Der Farbstoff ist eine fette, braune Masse, bei 100—120° schmelzend. Die Lösung in Äther und Chloroform besitzt grüne Fluoreszenz. Die Asche besteht fast ganz aus Eisen.

L. Farbstoff nach Kunkel,

auch Harnsäurefarbstoff genannt, findet sich im Harnsäureniederschlag, aus Harn durch Salzsäure ausgeschieden, und erteilt diesem eine braune Farbe. Er ist stark eisenhaltig, ebenfalls ohne klinische Bedeutung.

M. Hämatoporphyrin (S. 354).

II. Im pathologischen Harne vorkommende Farbstoffe.

A. *Blutfarbstoffe* (S. 343).

B. *Gallenfarbstoffe*.

Die Gallenbestandteile (Gallenfarbstoffe und Gallensäuren) werden einzig und allein in den Leberzellen bereitet und fließen bei normalen Verhältnissen in den Darm, um hier zur Verdauung beizutragen und besonders Fette resorbieren zu helfen, so daß im gesunden, normalen Blute keine Galle vorhanden ist. Unter pathologischen Verhältnissen tritt die Galle vermittelt starken Druckes durch Resorption der Gallenbestandteile von den Lymphgefäßen in den Blutstrom und in die Gewebe (hepatogener Ikterus, Stauungsikterus) und erzeugt dann die bekannten ikterischen Erscheinungen (Gelbsucht, Gelbfärbung der Haut, des Augapfels); ein Teil der in das Blut gelangten Galle wird durch die Nieren im Harne ausgeschieden und sind dann im Harne die Gallenfarbstoffe, selten auch die Gallensäuren (gallensauren Salze) vorhanden.

Die Gallenfarbstoffe sind sicher Abkömmlinge des Blutfarbstoffes und werden durch die Leber aus dem Oxyhämoglobin gebildet, indem dieses in Eiweiß und Hämatin zerfällt, welches letzteres nach Nencki und Sieber unter Austritt von Eisen und Aufnahme von Wasser in Bilirubin umgewandelt werden soll.

Der hepatogene Ikterus (Stauungsikterus, mechanischer Ikterus) wird veranlaßt durch eine Hemmung oder durch Aufhebung des Abflusses der Galle aus der Leber infolge einer Verstopfung der Gallengänge durch Gallensteine (Tumoren).

Ob die Entstehung des hämatogenen Ikterus (auch chemischer genannt), die Umwandlung von Blutfarbstoff in Gallenfarbstoffe außerhalb der Leber, möglich ist, ist zweifelhaft; F. Blumenthal möchte gleichwohl die Leydensche Unterscheidung eines hepatogenen und hämatogenen Ikterus beibehalten wissen und bezeichnet als letzteren einen solchen, bei dem die Entstehung des Farbstoffes aus dem Zerfall von roten Blutkörperchen stattfindet.

Der hepatogene Ikterus tritt stark auf bei akuter gelber Leberatrophie (hier werden noch gefunden Gallensäuren, Eiweiß, Leucin, Tyrosin, Nierenepithelien, Harnzylinder, Fett), beim Verschuß des Gallenganges, bei der Weilschen Krankheit (akuter, fieberhafter Ikterus; hier auch Eiweiß, Blutkörperchen, Zylinder), bei hypertrophischer Leberzirrhose, bei katarrhalischem Ikterus, weniger stark bei Leberkrebs (hier starke Indikanausscheidung), bei Lebersyphilis, bei Leberabszeß.

Ein hämatogener Ikterus wäre zu finden nach Vergiftungen mit Phosphor, mit Arsenwasserstoff, mit Äther, mit Chloroform, mit Anilin u. s. w., nach Infektionskrankheiten (Typhus, Scharlach), bei Karzinom.

Nach Bunge ist auch der hämatogene Ikterus ein Stauungsikterus; die Stauung wird durch eine Behinderung des Abflusses der reichlich gebildeten, dicklichen Galle bewirkt.

Ikterischer Harn zeigt eine safrangelbe, rötlich-braune, braune (bierähnliche), auch ins Grüne schillernde Farbe, schäumt stark beim Schütteln mit einem mehr oder weniger gelb oder grünlichgelb gefärbten Schaume (Rheum- und Sennaharne S. 379); die Färbung entspricht häufig nicht dem Gehalte an Bilirubin. Mit der Ausscheidung der Gallenbestandteile können, wie erwähnt, auch Eiweißabsonderungen verbunden sein, der Harn kann trüb sein und ein Sediment bilden, das aus reichlichem oft gelbgefärbtem Epithel, aus mit Farbstoffkörnern versehenen Zylindern, auch aus freien kleineren oder länglicheren Körnchen von grüner bis schwarzer Farbe, widerstandsfähig gegen Reagentien, aus Leucin,

Tyrosin, bestehen kann. Bilirubin wird nicht selten in dem mit Salzsäure angesäuerten Harn in braunen Nadeln abgeschieden. Von den verschiedenen Farbstoffen ist mit voller Sicherheit im frischen ikterischen Harn nur das Bilirubin (meist als Alkali-Verbindung) aufgefunden worden. Dieses ist die Muttersubstanz der übrigen Gallenfarbstoffe, — Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Bilihumin — die sich leicht beim Stehen des Harnes bilden, also als Chromogene aufzufassen sind.

Nachweis der Gallenfarbstoffe.

Enthält der Harn Blut und Blutfarbstoff neben dem Gallenfarbstoff, so fällt man den Gallenfarbstoff durch Bleiessig, filtriert den Niederschlag ab, zersetzt ihn nach dem Auswaschen mit kohlensaurem Natron und benützt das Filtrat oder die durch Ausschütteln mit Chloroform erhaltene Farbstofflösung zum Nachweise von Gallenfarbstoffen.

„Falkenholz“

Kochsalz
von Gallenfarbstoffen.

Reagenz:
Sp. Kal. nitrat. 10.
Natriumchlorat. 75.
Tel. Jod (10%) 35 ccm.
Alkohol (90%) 125 ccm.
Aqua dest. 60 ccm.

*Man schüttelt die Mischung 5 Min. lang
möglichst kräftig umzuringeln,
filtriert den Niederschlag ab
mittels Filtrierpapier mit saurem
Reagenz, so bildet sich ein
dunkelgrüner Niederschlag,
ja man kann das Biliverdin
ein Ring, der allmählich
mit dem Alkoholgrünlich gefärbt
ist.*

1. Methode von Gmelin-Tiedemann.

Die Reaktion beruht auf der allmählichen Oxydation des Bilirubins zu Biliverdin (grüne Färbung).

In ein Reagensglas gibt man ca. 5 ccm konzentrierter schwach gelber Salpetersäure (am besten Salpetersäure, der man auf ca. 100 ccm 1—2 Tropfen rauchender Salpetersäure zugesetzt hat) und auf diese vorsichtig, ohne daß eine Vermischung der Flüssigkeiten eintritt, am Rande des am besten schiefgehaltenen Glases entlang mit einer Pipette ebensoviel Kubikzentimeter Harn. Es entsteht bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen — bei geringem Farbstoffgehalt nicht immer sofort — an der Berührungsstelle der charakteristische smaragdgrüne Ring, der allmählich höher steigt, und an der unteren Grenze nach und nach ein blauer, violettroter und gelber Ring. Manchmal tritt infolge zu großen Gehaltes der Salpetersäure an salpetriger Säure eine zu stürmische Entwicklung ein und die Reaktion wird undeutlich.

Man kann die Probe auch nach Brücke-Fleischl so ausführen, daß man zu dem Harn eine konzentrierte Natriumnitratlösung gibt und dann konzentrierte Schwefelsäure langsam nachfließen läßt. Die Reaktion tritt dann langsam ein und hält längere Zeit an.

Bilirubin $C_{42}H_{66}N_4O_6$	Biliverdin $C_{46}H_{72}N_4O_8$	Biliprasin $C_{46}H_{72}N_4O_8$	Bilifuscin $C_{46}H_{72}N_4O_8$
Kommt in der Galle und in den Gallensteinen vor. Es löst sich aus seiner Chloroformlösung in roten, rhombischen Tafeln kristallisiert gewinnen. In Wasser ist es unlöslich, wenig löslich in Äther, leichter in Alkohol, leicht in Chloroform; in Alkalien löst es sich leicht und wird durch Säuren daraus wieder abgeschieden. Mit den alkalischen Erden und den Oxyden der Schwermetalle bildet es in Wasser unlösliche Verbindungen. In alkalischen Lösungen wandelt sich das Bilirubin unter Absorption von Sauerstoff in grünes Biliverdin. Eine Bilirubinlösung in Chloroform färbt sich beim allmählichen Zusatz von Salpetersäure (etwas rauchende enthaltend) oder von Bromwasser erst grün, dann blau, violett, rot und endlich gelb. Naszierender Wasserstoff führt Bilirubin in Hydrobilirubin über.	Findet sich in der Galle und in Gallensteinen, in ikterischen Harnen, die nach längerem Stehen grün geworden sind, und in den aus dem Magen erbrochenen grünen Massen. Es bildet ein amorphes, schwarzes Pulver, unlöslich in Wasser, in Äther und Chloroform, löslich in Äthyl- und Methylalkohol mit blaugrüner Farbe, die durch eine Spur Säure feurig grün wird. Es löst sich in Alkalien mit grüner Farbe und wird durch Säuren in Form von grünen Flocken gefällt. In konzentrierter Essigsäure und Salzsäure löst es sich gleichfalls; mit Salpetersäure gibt es die gleichen Reaktionen, wie das Bilirubin. Vom Bilirubin läßt es sich durch die verschiedene Löslichkeit trennen.	Bildet ein amorphes, grünlich schwarzes Pulver; in Wasser, Äther, Chloroform unlöslich; löst sich in Alkohol mit rein grüner Farbe; auf Zusatz von Ammoniak wird die Lösung braun (Unterschied von Biliverdin). In Alkalien ist es leicht löslich mit brauner Farbe, die durch Säure in Grün übergeht (Unterschied von Bilifuscin). Man nimmt deshalb an, daß die braunen, ikterischen Harnen, die sich auf Zusatz einer konzentrierten Mineralsäure grün färben, Biliprasin enthalten.	Nur in Gallensteinen, scheint aber doch auch im Harn vorzukommen. Dunkelbraun, unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform; löst sich aber in Gegenwart von fetten Säuren in Äther und in Chloroform; die braune Lösung im Alkohol ändert sich durch Säuren nicht. Das Endprodukt der Oxydation aller Gallenfarbstoffe in alkalischer Lösung an der Luft ist das Bilihumin, das sich auch in den Gallensteinen als schwarzbrauner Körper findet.

Diese beiden Farbstoffe scheinen noch nicht vollkommen rein dargestellt zu sein, da die von verschiedenen Forschern gewonnenen Farbstoffe auch verschiedene Eigenschaften zeigen.

Cholecyanin (Bilicyanin, Choleverdin) entsteht bei der Oxydation der Gallenfarbstoffe bei Gegenwart von Chlorzink.

Choletelin ist das letzte Oxydationsprodukt der Einwirkung von Salpetersäure auf Bilirubin.

Modifikation nach Rosenbach.

Man filtriert eine größere Menge Harn durch ein kleines Filter und betupft die innere Seite des Filters mit der etwas rauchende Salpetersäure enthaltenden Salpetersäure; man erhält das gleiche Farbenspiel in Form der konzentrischen Ringe wie bei 1, von innen nach außen gelbrot, rot, violett, blau, grün.

Beurteilung.

Charakteristisch für die Gegenwart der Gallenfarbstoffe ist nur die auftretende Grünfärbung, der grüne Ring, da die blaue und rote Färbung auch andere Farbstoffe (Indikan) geben. Alkoholische Lösungen können nicht verwendet werden, da Alkohol auch Färbungen gibt.

Die Salpetersäure darf nicht zu viel salpetrige Säure enthalten, da die Reaktion sonst stürmisch und sehr schnell verläuft; es empfiehlt sich auch die Anwendung der modifizierten Methode von Brücke-Fleischl.

Urine mit geringem Gallenfarbstoffgehalt geben die Reaktion häufig nicht. Übrigens gibt die Rosenbachsche Modifikation sichere Resultate oder ist schärfer, da man durch Filtrieren größerer Harnmengen die Gallenfarbstoffe im Filter anreichern kann. Zu bemerken ist, daß auch nach Antipyringenuß infolge Bildung von Nitrosoantipyrin ein grüner Ring entstehen kann (P. Süß).

Manche Harne, die Gallenfarbstoff enthalten, geben die Reaktion mit Salpetersäure nicht, da andere Farbstoffe (Urobilin) die Farbenentwicklung hindern; in solchen Fällen verfährt man nach Methode 5 oder 6.

Aus Harn mit geringen Mengen Gallenfarbstoff und Eiweiß muß letzteres erst entfernt werden.

2. Probe nach Hammarsten.¹⁾

Erforderliche Lösung.

Ein Gemisch von 19 ccm einer 25 % Salzsäure und 1 ccm einer 25 % Salpetersäure läßt man einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen, bis es etwas gelblich geworden ist.

Ausführung.

1 ccm der Lösung wird vor dem Gebrauch mit 5 ccm Alkohol von 95—96 % verdünnt. Enthält ein Harn reichlich Gallenfarbstoffe, so setzt man zu einigen Kubikzentimetern Harn einige Tropfen des Reagenses; es tritt sofort die charakteristische grüne Färbung auf; sind nur wenig Gallenfarbstoffe neben anderen in größerer Menge vorhandenen Farbstoffen zugegen, so fällt man 10 ccm Harn mit einigen Kubikzentimetern Baryum- oder Calciumchloridlösung, zentrifugiert, gießt die Flüssigkeit vom Bodensatz ab und übergießt diesen mit 1—2 ccm des Reagenses. Es tritt Grün-

¹⁾ Skand. Archiv f. Physiol. 1899. 9. 313.

färbung ein. Sind Spuren Farbstoff vorhanden, so verwendet man ein Säuregemisch von 1 Teil Salpetersäure und 99 Teilen Salzsäure.

Beurteilung.

Sehr empfindliche Methode. Blutfarbstoff stört nicht.

3. Probe von Penzoldt.

Man filtriert Harn durch ein nicht zu großes Filter, läßt dieses trocknen und bringt einige Kubikzentimeter konzentrierter Essigsäure auf das Filter; man läßt die Essigsäure in ein Glas ablaufen; die Essigsäure ist anfangs gelbgrün, später grün bis bläulichgrün gefärbt, während das Filter beim Trocknen grüne Ränder zeigt.

Beurteilung.

Die Methode ist sicher.

4. Nach Rosin überschichtet man in einem Reagensglase Harn mit 2—3 ccm einer ca. 1% alkoholischen Jodlösung; es tritt bei Gallenfarbstoffanwesenheit ein charakteristischer grasgrüner Ring an der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten ein. Alkalischer Harn ist mit Essigsäure anzusäuern.

Beurteilung.

Die Methode ist zwar scharf, doch kann nach Jolles nach Antipyringenuß ebenfalls ein grüner Ring entstehen.

5. Um in dunklen, indikanreichen Harnen geringe Mengen Gallenfarbstoffe nachzuweisen, macht man den Harn (100—200 ccm) nach Huppert¹⁾-Hilger²⁾ entweder mit kohlensaurem Natron alkalisch und versetzt ihn mit Chlorbaryum (oder Chlorcalciumlösung) oder fällt ihn mit Barythydrat im Überschusse. Der Niederschlag aus ikterischem Harn ist gelb; wird der abfiltrierte, ausgewaschene Niederschlag mit Alkohol, der einige Tropfen Schwefelsäure enthält, in ein Reagensglas vom Filter abgespritzt und dann erhitzt, so entfärbt sich der Niederschlag und es entsteht eine sehr

*Alkohol. Jodlösung
mit HCl: ss. Obermenge
u. Lappe:*

*Tit. f. 10 ccm
Alkohol (95%)
HCl dil. zu 500 ccm.*

*#
Alkohol. Jodlösung
Salzsäurelösung u.
Obermenge u. Lappe:*

*Liquor ferri sesquichl.
(50%) gelblich*

*Alkohol (95%)
HCl dil. zu 750 ccm.*

*Anmerkung:
da zu untersuchende
Flüssigkeit nicht mit
der gleichen Menge
Alkohol versetzt
wird, so muß die
Flüssigkeit vorher
mit Alkohol verdünnt
werden.*

¹⁾ Archiv der Heilkunde. 8. 351. 467.

²⁾ Archiv Pharm. [3] 6. 385.

*hilft man das Reagenz in das Filter einbringen.
In mancher Harnen das Gallenfarbstoffe nicht auf
ein blauer oder grüner Ring.*

schöne grüne bis blaue Lösung. (Man betrachte zumal bei geringen Mengen im auffallenden Lichte und sehe entweder von oben ins Reagensglas oder halte dieses gegen einen weißen Hintergrund.) Zum deutlicheren Nachweis schüttelt man diese Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und einigen Kubikzentimetern (5 ccm) Chloroform; dieses färbt sich tiefgrün.

Beurteilung.

Die Methode ist sehr sicher. Rheum- und sennahaltige Harnen geben eine gelbe Lösung. Nach Munck, der diese Probe neuerdings empfiehlt, sehr empfindlich (noch 0,00002 Bilirubin in 10 ccm Harn zu erkennen).

6. Probe nach Jolles.¹⁾

10 ccm Harn werden in einem Probierrohre mit 2—3 ccm Chloroform und 1 ccm einer 10 % Chlorbaryumlösung versetzt, kräftig geschüttelt und hierauf zentrifugiert. Die über dem Niederschlage und dem Chloroform stehende Flüssigkeit wird vorsichtig abgegossen, das Röhrchen mit destilliertem Wasser gefüllt und wieder zentrifugiert. (Bei stark gefärbten Harnen kann man die Behandlung mit Wasser ein drittes Mal wiederholen.)

Nach dem Abgießen der über dem Chloroform befindlichen Flüssigkeit wird der Rückstand mit ca. 5 ccm Alkohol kräftig geschüttelt und das Filtrat mit 2—3 Tropfen einer Jodlösung (0,63 g Jod und 0,75 Quecksilberchlorid werden in je 125 ccm Alkohol gelöst, die beiden Lösungen vereinigt und mit 250 ccm konzentrierter Salzsäure vermischt) versetzt; es entsteht bei Gegenwart der geringsten Spuren von Gallenfarbstoff die bekannte grüne Färbung. Durch Erwärmen des Glasinhaltes (kurze Zeit im Wasserbade) kann das Entstehen der Färbung beschleunigt werden.

Beurteilung.

Die Methode ist sehr scharf und läßt noch 0,1 mg Bilirubin in 100 ccm Harn erkennen.

7. Schüttelt man 30—50 ccm Harn mit Chloroform aus und überschichtet die Chloroformlösung mit Salpeter-

¹⁾ Wien, klin. Wochenschr. 1903. 491; Pharm. Centralh. 1903. 44. 478.

säure, die wenig salpetrige Säure enthält, oder mit Bromwasser, so tritt das oben angegebene Farbenspiel bei Anwesenheit von Gallenfarbstoffen ein. Läßt man das Chloroform im Uhrglase verdunsten, so bleiben rotgelbe oder rubinrote Kristalle von Bilirubin zurück, die, mikroskopisch untersucht, auf Zusatz von rauchender Salpetersäure schön die Farbenreaktion geben.

Beurteilung.

Das Chloroform muß frei von Alkohol sein wegen der Färbung desselben mit der Säure (S. 374).

8. F. Pröscher¹⁾ empfiehlt zum Nachweise von Bilirubin allein die Verwendung der Ehrlichschen Diazo-reaktion. Es bildet sich hier Azobilirubin.

Man sättigt 10 ccm Harn mit Ammonsulfat, filtriert den die Farbstoffe enthaltenden Niederschlag ab und zieht das nicht zu groß gewählte Faltenfilter mit 96 % Alkohol aus. Der alkoholische Auszug wird mit Salzsäure stark angesäuert und mit der Diazolösung (S. 391) versetzt. Bei Anwesenheit von Bilirubin tritt eine schöne blaue Färbung auf, die bei Alkalizusatz durch Rot in Grün umschlägt. In neutraler Lösung ist das Azobilirubin prachtvoll rot. Läßt man zu der sauren Lösung vorsichtig eine nicht zu konzentrierte Kalilauge zufließen, so bilden sich die drei Farbenringe grün, rot, blau.

Beurteilung.

Andere Gallenfarbstoffe (Biliverdin, Bilihumin) geben die Reaktion gar nicht, Bilifuscin und Biliprasin in äußerst geringem Grade.

9. Triollets²⁾ Probe.

50 ccm Harn werden mit 40–50 g Ammonsulfat gesättigt, der Niederschlag wird durch Watte abfiltriert und diese zuerst mit heißem Chloroform (in Lösung Bilirubin und Bilifuscin) und dann mit heißem Alkohol (in Lösung Biliverdin und Biliprasin) behandelt. Die beiden Lösungen werden eingedampft und die

¹⁾ Centralbl. inn. Medizin. 1901. 22. 169.

²⁾ Rep. d. Pharm. 1901. 392.

Rückstände mit kochendem Wasser aufgenommen; die erhaltene Lösung wird vorsichtig mit rauchender Salpetersäure überschichtet; es entsteht erst ein roter und gelber, nach 10 Minuten zwischen diesen ein grüner Ring, nach 15 Minuten ein blauer zwischen dem roten und dem grünen. Nach 2 Stunden hinterbleibt nur eine blaue Zone zwischen zwei gelben.

Beurteilung.

Störende andere Farbstoffe, Blut, Eiweiß, Eiter werden durch diese Probe entfernt.

10. Cholecyaninprobe von Stokvis.

Ist die Gmelinsche Probe unsicher, so versetzt man 20—30 ccm Harn mit 5—10 ccm Zinkacetatlösung (20 %) und stumpft die stark saure Reaktion mit kohlensaurem Natron ab; den entstandenen voluminösen Niederschlag wäscht man auf einem Filter aus und löst ihn in Ammoniak; es wird dadurch das Bilirubin in Cholecyanin (das blaue Oxydationsprodukt, der blaue Ring bei der Gmelinschen Probe) übergeführt. Wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind, zeigt die ammoniakalische Lösung meistens Fluoreszenz und im Spektrum charakteristische Streifen bei *C*, *D* und einen schwachen zwischen *D* und *E*.

11. In zweifelhaften Fällen kann man den reduzierbaren Stoff von Stokvis, der bei der vollständigen Oxydation der Gallenfarbstoffe entsteht, nachweisen. Man fällt den sauren Harn mit Bleizucker, wenn nötig mit Bleiessig, und entfernt den Bleiüberschuß durch Oxalsäure. Das Filtrat wird mit Kaliumhydroxyd alkalisch gemacht und gekocht; wird die Flüssigkeit mehr oder weniger rot, so sind Gallenfarbstoffe vorhanden; die Lösung zeigt im Spektroskop zwischen *D* und *E* einen Streifen oder einen verwaschenen Schatten.

Wahl der Methode.

Bei einer Prüfung auf Gallenfarbstoffe wird man stets erst die Gmelinsche Probe 1, eventuell nach Rosenbach, zu Rate ziehen. Bei negativem Ausfall kann man eine von den genauen Methoden (2, 5, 6, 7 event. 10) in Anwendung bringen. Zum Nachweise von Bilirubin allein empfiehlt sich die Probe 8 nach Pröscher.

Zu bemerken ist noch, daß Harne, die nach Einnehmen von Rheum, Santonin oder Senna entleert worden sind, mit ikterischem Harne Ähnlichkeit besitzen. Solcher Harn wird aber auf Zusatz von Alkalien rot und bekommt nach dem Ansäuern seine ursprüngliche Farbe wieder.

Quantitative Bestimmung des Bilirubins nach J. Jolles.¹⁾

Prinzip.

Bilirubin wird bei Einwirkung alkoholischer Jodlösung quantitativ in einen grünen Farbstoff, in das Biliverdin, übergeführt, wobei auf 1 Mol. Bilirubin 2 Atome Jod verbraucht werden.

Erforderliche Lösungen.

$\frac{1}{100}$ Hüblsche Jodlösung.

Einerseits werden 0,64 g Jod, andererseits 0,8 g Quecksilberchlorid in je 250 ccm 95 % fuselfreien Alkohols gelöst, letztere Lösung, wenn nötig filtriert und sodann beide Lösungen vereinigt. Die Flüssigkeit darf erst nach etwa 10stündigem Stehen in Gebrauch genommen werden. Der Titer der Jodlösung ist immer frisch einzustellen; den Titer der Thiosulfatlösung stellt man nach S. 83 fest.

Ausführung.

Von gallenfarbstoffreichen Harnen werden 10 ccm, von gallenfarbstoffarmen Harnen 20 ccm genau abgemessen und in einen Schüttelzylinder von etwa 200 ccm Inhalt gebracht, der am Boden eine birnenförmige Gestalt und ein möglichst kurzes Ausflußrohr besitzt. Zu dem Harne setzt man 20 ccm Chloroform, 10 ccm 10 % Chlorbaryumlösung und 50 ccm Salzsäure (1:5) hinzu und schüttelt das Ganze mehrere Minuten kräftig durch. Nach erfolgtem Absitzenlassen läßt man 15 ccm von der Chloroformlösung in einen geaichten Schüttelzylinder (ca. 25 cm Höhe und 3 cm Weite) abfließen. Die im Ausflußrohre befindlichen zurückgebliebenen Chloroformtropfen läßt man durch Umkehren des Schüttelzylinders und Öffnen des Hahnes zurückfließen. Man bringt weitere 15 ccm Chloroform in den Schüttelzylinder, schüttelt kräftig durch, läßt absitzen und hierauf 12 ccm der Chloroformlösung in den Standzylinder abfließen. Nunmehr setzt man 10 ccm Chloroform von neuem hinzu und nach erfolgtem Schütteln und Absetzenlassen läßt man 8 ccm der Chloroformlösung abfließen. Nach diesem Vorgange sind alle Gallenfarbstoffe extrahiert. Man wäscht den Inhalt des Standzylinders zweimal mit ca. 30 ccm Salzsäure (1:1) aus, um mitgerissene Harnbestandteile zu entfernen, indem man wiederholt schüttelt, und pipettiert oder hebert 25 ccm der über

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 27. 83.

dem Niederschlage befindlichen, fast klaren Flüssigkeit ab. Das Schütteln mit 30 ccm Salzsäure, dann das Abhebern der letzteren wird nochmals wiederholt und der Inhalt des Zylinders in eine Stöpselflasche gebracht. Der Zylinder wird noch zweimal mit je 25 ccm Alkohol nachgewaschen, auch diese Waschflüssigkeit der Hauptmenge zugefügt und nun 10 ccm der Hüblschen Jodlösung hinzugesetzt. Man schüttelt ca. 5 Minuten öfters durch, setzt dann 5—10 ccm einer 10 % Jodkaliumlösung zu, verdünnt mit ca. 100 ccm Wasser und titriert mit der $\frac{1}{100}$ Natriumthiosulfatlösung zurück, nachdem man Stärkelösung zugegeben hat. Die über dem Chloroform stehende Flüssigkeit muß vollkommen entfärbt sein.

1 ccm der $\frac{1}{100}$ Jodlösung = 0,00144 Bilirubin.

Im Anschlusse an die Prüfung des Harnes auf die Gallenfarbstoffe soll die Prüfung auf Gallensäuren angereicht werden, da diese Prüfung manchmal unmittelbar nach der Probe auf die Gallenfarbstoffe ausgeführt zu werden pflegt.

Die *Gallensäuren* sind amidartige Verbindungen der Fellin- und Cholsäure mit Glykokoll und Taurin, aus denen sich durch Alkalien oder Säuren die freien Säuren herstellen lassen. Die Paarung der Gallensäuren geht ebenfalls in den Leberzellen vor sich.

Die Gallensäuren kommen selten im Harne vor; nur bei hepatogenem Ikterus werden sie angetroffen und auch da nur in geringer Menge; jedenfalls werden sie nach dem Übergange ins Blut leicht zerstört.

Eigenschaften.

Die Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$ kristallisiert in mikroskopischen Kristallen, schwer in Wasser, leichter löslich in Alkohol und Äther, sehr leicht in Eisessig. Optisch aktiv.

Die Fellinsäure $C_{23}H_{38}O_4$ kristallisiert aus Benzol in glänzenden, rechtwinkeligen Täfelchen; sonst kristallisiert sie nur schwer.

Glykocholsäure und Taurocholsäure kristallisieren in farblosen Nadeln; sie kommen in der Rinds- und Hundsgalle vor.

Die Gallensäuren geben die Pettenkofer'sche Reaktion und zeigen in alkoholischer Lösung starke Rechtsdrehung.

Nachweis.

Wegen des auch im normalen Harn vorhandenen Indikans und des normalen Vorkommens geringer Mengen von Kohlehydraten, von höheren Kohlenwasserstoffen und Säuren der Fett- und Benzolreihe, welche eine rötliche Färbung bei der Pettenkofer'schen Reaktion — einer Furfurolreaktion — veranlassen können, kann der Nachweis von Gallensäuren im ikterischen Harn nicht direkt erfolgen. Man muß daher die Gallensäuren aus dem Harn isolieren und dann die Pettenkofer'sche Reaktion anstellen.

1. Man fällt nach Plattner den eiweißfreien Harn (100—200 ccm) mit Bleiessig und Ammoniak aus, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen mehrmals mit absolutem Alkohol aus und filtriert heiß. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleies verdunstet man mit einigen Tropfen Soda-lösung zur Trockene, kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus und verdunstet die Lösung auf ein kleines Volumen; man schüttelt reichlich mit Äther, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; dieselben verwandeln sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Kristallnadeln. Man versetzt zur Ausführung der Pettenkofer'schen Reaktion die wässrige Lösung dieser Kristalle oder die wässrige Lösung des Verdampfungsrückstandes von der alkoholischen Lösung mit Soda (oben) mit einigen Tropfen Rohrzuckerlösung (1:10) und setzt dann vorsichtig konzentrierte Schwefelsäure hinzu; man hält die Temperatur auf ca. 70°; es entsteht bei Anwesenheit von Gallensäuren erst eine rote, dann eine sehr schön violettrote Färbung.

Die mit Wasser oder Alkohol verdünnte Lösung zeigt im Spektrum einen Streifen zwischen *D* und *E* und einen zweiten vor *F*.

2. Nach Udránszky setzt man zu 1 ccm der wässrigen oder alkoholischen Lösung der Gallensäuren 1 Tropfen 0,1 % wässriger Furfurol-lösung, läßt dann 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure zufließen und kühlt ab. Es entsteht selbst bei geringen Mengen von Gallensäuren (Cholsäure) eine schöne pfirsichblütenrote Färbung.

Annähernde quantitative Bestimmung.

Man isoliert aus ca. 500 ccm Harn nach Plattner die Gallensäuren. Die alkoholische Lösung derselben wird eventuell

noch mit Tierkohle entfärbt und die alkoholische Lösung polarisiert. Die spezifische Drehung des glykocholsauren bzw. taurocholsauren Natrons in Alkohol beträgt $+25,7$ bzw. $+24,5^{\circ}$.

C. *Melanin (Melanogen)*.

Dasselbe ist kein normaler Harnbestandteil, sondern kommt nur in pathologischen Verhältnissen, doch ziemlich selten vor — Melanurie. — Der Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, ist entweder gleich nach dem Entleeren dunkel oder nimmt beim Stehen an der Luft von oben nach unten beginnend eine schwarzbraune bis schwarze Färbung an; das Melanin kann sich auch als fester Körper im Sedimente ausscheiden. Im Harn ist das Melanin als Melanogen, das Chromogen des Melanins, das erst durch Oxydation in Melanin übergeführt wird, vorhanden.

Darstellung.

Man fällt den Harn mit essigsaurem Blei, zersetzt den Bleiniederschlag durch Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat ein, das dann einen schwarzbraunen Rückstand hinterläßt. Auch kann man den Harn mit Barytwasser fällen und die braungelbe Barytfällung mit Sodalösung behandeln, welche die Farbstoffe aufnimmt, die dann durch Übersättigen der Lösung mit Schwefelsäure ausgeschieden werden. Durch wiederholtes Auflösen in verdünnter Lauge und Fällern mit Essigsäure erhält man die Farbstoffe reiner; einheitliche Substanzen sind dieselben aber nicht.

Nachweis.

1. Beim Ansäuern von Harn mit verdünnter Schwefelsäure und Zusatz von Eisenchlorid oder Kaliumdichromatlösung zum Harn entsteht bei Anwesenheit von Melanin dunkle Färbung. Durch Reduktionsmittel (Zinkstaub und Salzsäure) wird wieder Entfärbung bewirkt.
2. Bei Zusatz von Bromwasser und Schwefelsäure oder von Chlorwasser tritt auch Färbung ein; Überschuß von Brom- oder Chlorwasser entfärbt den Harn, wobei sich ein dichter schmutziggelber Niederschlag absetzt.

Eigenschaften.

Das Melanin ist ziemlich resistent gegen Säuren und Alkalien, durch Bleiessig, nicht durch neutrales Bleiacetat, wird es aus seinen Lösungen gefällt.

D. *Leubes Farbstoff*.

Aus einem pathologischen, dunkelvioletten gewordenen Harn wurde der Farbstoff durch Äther isoliert, der ihn mit der gleichen Farbe aufnahm. In Alkali war der Farbstoff löslich (Unterschied von Indigorot). Die alkoholische Lösung wurde durch Zinkstaub entfärbt, an der Luft aber wieder violett.

E. *Thormälens Farbstoff*.

Er wurde im Harn einer an Leber- und Milztumor Leidenden und in drei anderen sehr indikanreichen Harnen vorgefunden. Der Harn war dunkelbraun, bei der Indikanprobe trat starke Rotfärbung auf; die Legalsche Acetonprobe (S. 80) ergab nach dem Ansäuern mit Essigsäure sehr schöne Blaufärbung. Aus dem Bleiessigniederschlag erhält man die Substanz nach dem Zersetzen mit Natriumkarbonat. Sie löst sich in Alkohol, Glycerin, nicht in Chloroform, Benzol, wenig in heißem Äther.

III. Harnfarbstoffe, durch Einwirkung von Arzneien gebildet (S. 4 und bei Arzneien).

36. *Cholesterin*. $C_{27}H_{45}.OH + H_2O$.

Das Cholesterin findet sich in allen Zuständen, welche einen reichlichen Gehalt an Fett bedingen (bei Chylurie, bei Lipurie, bei amyloider und fettiger Degeneration der Niere); man kann es sowohl auf der Harnoberfläche schwimmend, als auch im Sedimente in dünnen rhombischen glänzenden Tafeln vorfinden.

Darstellung und quantitativer Nachweis.

Man nimmt zu seiner Gewinnung mehrere Liter Harn in Arbeit und verfährt nach einer der bei der Isolierung des Fettes angegebenen Methoden (S. 91). Der Rückstand enthält neben Fett auch Cholesterin und Lecithin; um das Cholesterin von seinen Begleitern zu trennen, löst man den Rückstand in warmem Alkohol, gibt etwas alkoholische Kalilauge hinzu und erhitzt ca. $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflußkühler; hierdurch wird das