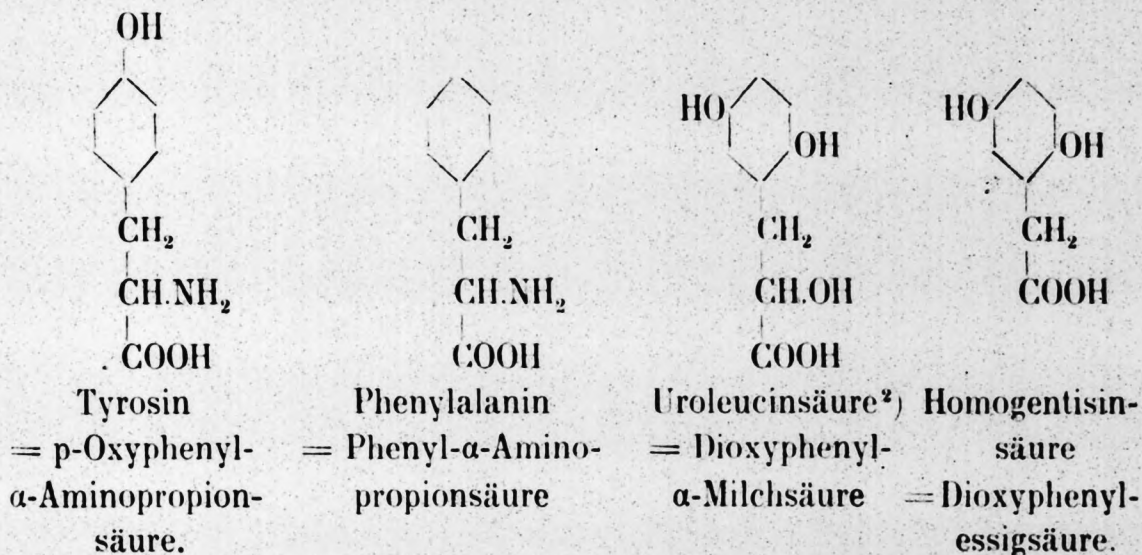


Über das Schicksal einiger aromatischer Säuren bei der Alkaptonurie.

Von
Otto Neubauer und W. Falta.

(Aus der II. medizinischen Klinik in München und der medizinischen Klinik in Basel.)
 (Der Redaktion zugegangen am 17. Mai 1904.)

Als Alkaptonurie bezeichnet man bekanntlich eine Abnormität des Stoffwechsels, die darin besteht, daß die aus den Eiweißkörpern stammenden aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin nicht wie beim Normalen vollständig verbrannt, sondern in Form von Diphenolsäuren (Homogentisinsäure, Uroleucinsäure) ausgeschieden werden.¹⁾



Um einen Einblick in das Wesen dieses eigenartigen Umwandlungsprozesses zu gewinnen, haben bereits frühere Autoren untersucht, ob nicht auch andere aromatische Säuren im Organismus des Alkaptonurikers eine analoge Veränderung erfahren. So haben Embden³⁾ und Mittelbach⁴⁾ Phenylessigsäure, Phenyl-

¹⁾ Über den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Alkaptonurie siehe F. Müller in Leydens Handbuch der Ernährungstherapie, II. Auflage, S. 244 (1903).

²⁾ H. Huppert, Diese Zeitschr., Bd. XXIII, S. 412 (1897).

³⁾ Embden, Diese Zeitschr., Bd. XVIII, S. 317 (1894).

⁴⁾ Mittelbach, D. Arch. f. klin. Med., Bd. 71, S. 61 (1901).

aminoessigsäure und Phenylpropionsäure in großen Dosen verabreicht, ohne indes eine sichere Vermehrung der ausgeschiedenen Alkaptonsäuren zu erzielen.

Als uns daher vor einiger Zeit durch die gütige Erlaubnis des Vorstandes der Basler medizinischen Klinik, Herrn Professor His, Gelegenheit geboten wurde, Untersuchungen an einem Falle von Alkaptonurie anzustellen,¹⁾ erschien es uns wünschenswert, zunächst die eben erwähnten Versuche zu wiederholen und dann auch den Einfluß anderer bisher nicht untersuchter Gruppen von aromatischen Säuren auf die Alkaptonausscheidung zu studieren.

Zur Methodik ist folgendes zu bemerken. Die Säuren wurden in Dosen von 0.5–1.0 g über die Tagesstunden verteilt, in capsul amylac. verabreicht und zwar entweder in Form ihrer Na-Salze oder in freiem Zustande; in letzterem Falle wurde nach jeder Dosis eine Messerspitze Natr. bicarbonicum gegeben. Die verwendeten Präparate waren teils von E. Merck, teils von Dr. Th. Schuchardt bezogen, zum Teil haben wir sie selbst dargestellt. Von ihrer Reinheit überzeugten wir uns durch Bestimmung der Schmelzpunkte, von ihrer Unschädlichkeit durch Tier- und Selbstversuche. Im 24 stündigen Harn (von 8 Uhr morgens bis 8 Uhr morgens) wurde das Reduktionsvermögen für ammoniakalische Zehntel-Normal-AgNO₃-Lösung nach der von Wolkow und Baumann²⁾ angegebenen Methode bestimmt; die erhaltenen Reduktionswerte wurden durch Multiplikation mit dem Faktor 0,04124 auf Homogentisinsäure umgerechnet.³⁾ Die N-Bestimmungen wurden nach Kjeldahl vorgenommen. In der ersten Zeit der Versuche (vom 28. September bis 3. Oktober 1902) erhielt der Patient aus anderen Gründen eine vollständig gleichmäßige, eiweißarme Kost, vom 4. Oktober an wurde etwas Eiweiß zugelegt. Vom April bis Juli war die Menge des täglich eingeführten Eiweißes noch größer und dementsprechend zeigt auch die N- und die Homogentisinsäure-Ausscheidung höhere Werte. Aus den erhaltenen Zahlen

¹⁾ Genaueres über den Fall (Anton M., Bauer aus Basel-Land) siehe bei Langstein und Erich Meyer, D. Arch. f. klin. Med., Bd. 78, S. 161 (1903), ferner bei W. Falta und Langstein, Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, S. 513; W. Falta, Verhandl. der Naturh.-Gesellsch. zu Basel (1903); Abderhalden und W. Falta, Diese Zeitschr., Bd. XXXIX, S. 144.

²⁾ Wolkow und Baumann, Diese Zeitschr., Bd. XVI, S. 270 (1892).

³⁾ Bei dem hier untersuchten Falle war die ausgeschiedene Alkaptonsäure Homogentisinsäure. Uroleucinsäure konnte während der Zeit unserer Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. In einem früheren Zeitpunkte war es allerdings Langstein und Erich Meyer (a. a. O.) gelungen, eine geringe Menge von Uroleucinsäure aus dem Harn dieses Patienten darzustellen.

wurde für jeden Tag das Verhältnis der Menge der ausgeschiedenen Homogentisinsäure zur Menge des Harnstickstoffes H : N berechnet, wobei N = 100 gesetzt wurde.¹⁾ Dieses Verhältnis erwies sich als relativ unabhängig von der Art der Ernährung; es schwankte trotz der zweimaligen Änderung in der Diät nur innerhalb enger Grenzen; die äußersten Werte waren 31,6 : 100 und 47,2 : 100. Die absolute Menge der ausgeschiedenen Homogentisinsäure schwankte — von den Versuchstagen abgesehen — zwischen 3,074 und 6,129 g. Ein Übergang eingeführter aromatischer Säuren in Alkapton mußte sich in einer Vermehrung der Homogentisinsäurezahl bei gleichzeitiger Konstanz der N-Ausscheidung und daher auch in einer Steigerung des Quotienten H : N geltend machen.

I. Versuche mit nicht oxydierten aromatischen Säuren.

Phenyllessigsäure. Käufliches Präparat, Schmelzpunkt 76°.



CH₂

COOH

Siehe Tabelle I. 11. Juli 1903.

Verabreichte Menge 6,0 g.

Ausgeschiedene Homogentisinsäure in g:

5,564 — **5,152²⁾** — 6,041.

Phenylpropionsäure. Käufliches Präparat (E. Merck).



CH₂

CH₂

COOH

Schmelzpunkt 47° (unkorr.).

Siehe Tabelle I. 14. Mai 1903.

Verabreichte Menge 6,0 g.

Ausgeschiedene Homogentisinsäure in g:

5,122 — **5,181** — 5,168.

Das Verhältnis H : N zeigt am Versuchstag den niedrigen Wert **36,0**.

Zimtsäure = Phenylakrylsäure. Käufliches Präparat.



CH

CH

COOH

Siehe Tabelle I. 4. Mai 1903.

Verabreichte Menge 3,5 g.

Ausgeschiedene Homogentisinsäure in g:

6,129 — **5,239** — 6,208.

H : N = 41,7 — **32,0** — 47,0.

¹⁾ s. Langstein und Erich Meyer a. a. O., S. 166.

²⁾ Die fettgedruckten Zahlen beziehen sich auf den Versuchstag.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die untersuchten nicht oxydierten aromatischen Säuren nicht in Homogentisinsäure übergehen: für die Phenyllessigsäure können wir damit die Angabe Embdens, für die Phenylpropionsäure die Mittelbachs bestätigen. Die Zimtsäure war bisher noch nicht untersucht worden: es wäre möglich gewesen, daß sie infolge des Vorhandenseins der doppelten Bindung in der Seitenkette sich anders als die gesättigten Säuren verhalten hätte; der Versuch zeigt, daß dies nicht der Fall ist. Die Homogentisinsäureausscheidung und der Quotient H : N ist sogar am Versuchstage deutlich heruntergegangen, eine Erscheinung, die sich später auch bei anderen mit negativem Resultate verabreichten Säuren mehrfach wiederholt hat. Eine Deutung dieses Verhaltens steht gegenwärtig noch aus.

II. Im aromatischen Kern einfach hydroxylierte Säuren (Monophenolsäuren).

Aus der Tatsache, daß die nicht hydroxylierten aromatischen Säuren im Gegensatz zu dem in der para-Stellung hydroxylierten Tyrosin keine Vermehrung der Alkaptonausscheidung herbeiführen, hat Embden¹⁾ geschlossen, «daß die Reduktion der Para-Hydroxylgruppe ein integrierendes Moment des zur Homogentisinbildung führenden Prozesses darstellt», und Erich Meyer²⁾ hat aus demselben Grunde auf die Wichtigkeit einer Untersuchung der aromatischen Oxysäuren hingewiesen. Wir haben mit p-Cumarsäure, o-Cumarsäure und Cumarin Versuche angestellt.

p-Cumarsäure = p-Oxyzimtsäure. Diese Säure stellten wir nach den Angaben von Hlasiwetz³⁾ aus Aloe dar.
Schmelzpunkt 205°.



Tabelle I. 29. Oktober 1902.

Verabreichte Menge 2,85 g.

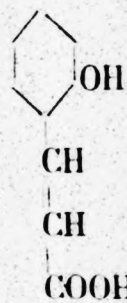
Homogentisinsäure in g: 4,950 — **5,741** — 5,273.
H : N = 46,7 — **48,7** — 46,6.

¹⁾ a. a. O., S. 319.

²⁾ Erich Meyer, D. Arch. f. klin. Med., Bd. 70, S. 443.

³⁾ Hlasiwetz, Liebigs Ann., Bd. 136, S. 31.

o-Cumarsäure = o-Oxyzimtsäure wurde von uns aus Cumarin nach Bleibtreu¹⁾ dargestellt.



Schmelzpunkt 207°.

Tabelle I. 8. September 1902.

Verabreichte Menge 5,0 g.

Homogentisinsäure in g: 4,718 — **4,748** — 4,788.

H : N = 44,1 — **41,3** — 42,8.

Der Harn des Versuchstages zeigte die für o-Cumarsäure charakteristische Grünfärbung auf Zusatz von Ammoniak (noch deutlicher auf Zusatz von Natronlauge), die nach kurzer Zeit durch die infolge der gleichzeitigen Anwesenheit von Homogentisinsäure auftretende Braunfärbung verdeckt wurde. Doch kann die Menge der unverändert ausgeschiedenen o-Cumarsäure nur sehr gering gewesen sein, denn es gelang nicht, sie aus dem Ätherextrakt des angesäuerten Harns darzustellen.

Cumarin = Lacton der o-Cumarsäure. Käufliches Präparat.



Schmelzpunkt 66° (unkorr.).

Tabelle I. 9. Mai 1903.

Verabreicht 4,0 g.

Homogentisinsäure in g: 5,49²⁾ — **5,586** — 5,193.

H : N = 40,7²⁾ — **40,2** — 34,4.

Es haben somit auch die untersuchten Phenolsäuren keine Umwandlung in Homogentisinsäure erfahren. Allerdings könnte möglicherweise die doppelte Bindung in der Seitenkette für den negativen Ausfall dieser Versuche verantwortlich zu machen sein, wir beabsichtigen daher, später noch Versuche mit p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylpropionsäure nachzutragen.

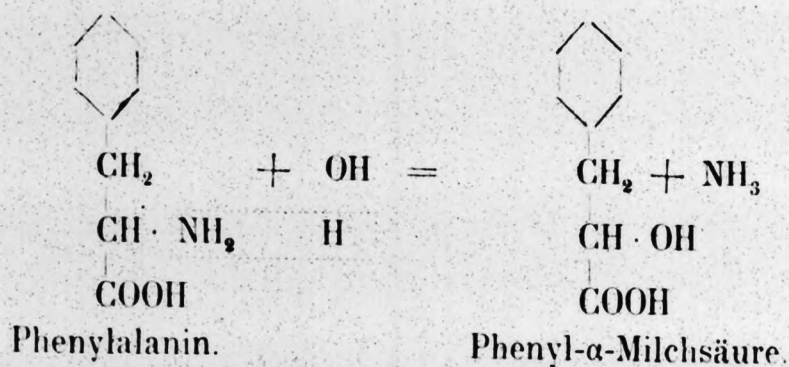
III. In der Seitenkette hydroxylierte aromatische Säuren (Alkoholsäuren).

Daß übrigens das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe im aromatischen Kern sicher keine unerläßliche Bedingung für die

¹⁾ Bleibtreu, Liebigs Ann., Bd. 59, S. 183.

²⁾ Die Bestimmung an dem dem Versuche unmittelbar vorangehenden Tage ging verloren; deshalb ist hier der Wert des vorletzten Tages vor dem Versuche eingesetzt.

Umwandlung einer Säure in Homogentisinsäure darstellt, geht aus der durch Falta und Langstein¹⁾ bei demselben Patienten festgestellten Tatsache hervor, daß auch Phenylalanin in Homogentisinsäure übergeht. Man mußte also daran denken, daß das wesentliche Moment für eine solche Umwandlung in der Beschaffenheit der Seitenkette zu suchen ist. Alle bisher untersuchten Substanzen, die zu einem negativen Resultat geführt haben, haben das Gemeinsame, daß die Wasserstoffatome der Seitenkette nicht substituiert sind: die einzigen Substanzen, die bisher zu einem positiven Ergebnis geführt haben, Tyrosin und Phenylalanin, zeichnen sich dagegen dadurch aus, daß sie am mittleren Kohlenstoffatom der dreigliedrigen Seitenkette eine Aminogruppe (NH₂) tragen. Offenbar von der Vorstellung ausgehend, daß hier leicht eine Abspaltung der NH₂-Gruppe erfolgt, hat man die Phenylpropionsäure gegeben. Eine genauere Betrachtung zeigt jedoch, daß eine derartige Ersetzung der NH₂-Gruppe durch H einen Reduktionsvorgang darstellt; diese Umwandlung des Phenylalanins ist ja auch bereits unter Verhältnissen wahrscheinlich gemacht worden, die einer Reduktion günstig sind, so bei der Fäulnis, speziell auch bei der Darmfäulnis. Für den Abbau im lebenden Gewebe aber ist eine derartige Reduktion unwahrscheinlich und auch noch niemals beobachtet worden. Als Säuren, welche auf der gleichen Oxydationsstufe stehen wie die Aminosäuren, sind dagegen die Oxysäuren zu betrachten, wie sie durch Ersetzung der NH₂- durch die OH-Gruppe entstehen. So entspricht dem Phenylalanin die Phenyl- α -Milchsäure, dem Tyrosin die p-Oxyphenyl- α -Milchsäure. Der Übergang in diese Oxysäuren kann glatt als NH₃-Abspaltung unter H₂O-Aufnahme aufgefaßt werden.



¹⁾ Falta und Langstein a. a. O.

Daß dieser Prozeß bei den Abbauvorgängen im lebenden tierischen Organismus wirklich eine Rolle spielt, scheint bereits durch zwei Beobachtungen nahegelegt. So hat Schotten¹⁾ vor langer Zeit gezeigt, daß Phenylaminoessigsäure im Organismus in Phenyl-oxyessigsäure (Mandelsäure) übergeht, und Blendermann²⁾ hat im Harn von Kaninchen, welche große Mengen von Tyrosin erhalten hatten, die entsprechende p-Oxyphenylmilchsäure in geringer Menge aufgefunden.

Aus diesen Erwägungen ergab sich die Aufforderung, in der Seitenkette oxydierte aromatische Säuren, speziell die Phenylmilchsäuren, einer Prüfung zu unterwerfen.

Phenyl- α -Milchsäure (inaktiv).



CH₂

CHOH

COOH

Diese Substanz wurde durch Reduktion aus Phenylbrenztraubensäure dargestellt (Schuchardt).

Schmelzpunkt 94° (unkorr.)

Tabelle I. 19. April 1903.

Verabreicht 6,0 g.

Homogentisinsäure in g = 5,877 — **7,722** — 4,720

H : N = 38,1 — **52,1** — 33,0

Phenyl- β -Milchsäure (Schuchardtsches Präparat).



CHOH

CH₂

COOH

Schmelzpunkt 92° (unkorr.)

Tabelle I. 23. April 1903.

Verabreicht 6,2 g.

Homogentisinsäure in g: 5,317 — **4,427** — 4,329.

H : N = 36,2 — **27,9** — 33,2.

Phenylglyzerinsäure (inaktiv).



CHOH

CHOH

COOH

Sie wurde durch Oxydation von Zimtsäure mit KMnO₄ dargestellt³⁾ (Schuchardt).

Schmelzpunkt 138° (unkorr.)

Tabelle I. 26. April 1903.

Verabreicht 6,0 g.

Homogentisinsäure in g: 4,268 — **3,973** — 4,766.

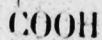
H : N = 33,9 — **28,6** — 32,6.

¹⁾ Schotten, Diese Zeitschr., Bd. VIII, S. 67.

²⁾ Blendermann, Diese Zeitschr., Bd. VI, S. 257.

³⁾ Fittig, Liebigs Ann., Bd. 268, S. 27.

Phenylbrenztraubensäure.



Die Darstellung erfolgte nach den Angaben von Plöchl¹⁾ und Erlenmeyer jun.²⁾ (Präparat von Schuchardt, einigemal umkrystallisiert.)

Siehe Tabelle I. 6. Juni 1903.

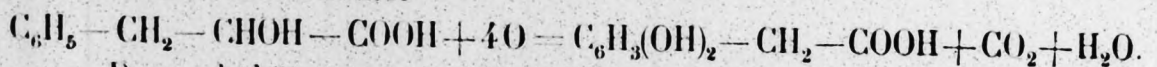
Verabreicht 5,7 g.

Homogentisinsäure in g: 6,039 — **10,555** — 6,776 — 5,68.

H : N = 42,8 — **68,5** — 47,3 — 41,5.

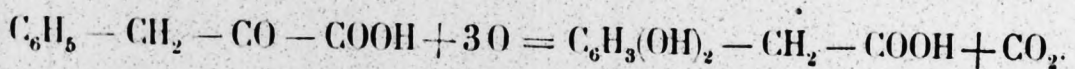
Die beiden am mittleren Kohlenstoffatom (in der α -Stellung) oxydierten Säuren, Phenyl- α -Milchsäure und Phenylbrenztraubensäure, haben also eine Umwandlung in Alkaptonsäure erfahren: die am β -Kohlenstoffatom oxydierte Phenyl- β -Milchsäure dagegen nicht: ebensowenig die Phenylglyzerinsäure, welche sowohl am α - wie am β -Kohlenstoffatom eine OH-Gruppe trägt. Diese beiden Säuren haben sogar eine gewisse Verminderung der Homogentisinsäureausscheidung herbeigeführt. (Siehe oben die Bemerkung beim Zimtsäureversuch.)

Der Übergang der Phenyl- α -Milchsäure in Homogentisinsäure erfolgt offenbar nach der Formel



Darnach könnten aus 166 g Phenyl- α -Milchsäure 168 g Homogentisinsäure entstehen; die verabreichten 6,0 g hätten daher im besten Falle eine Vermehrung der ausgeschiedenen Homogentisinsäure um 6,07 g herbeiführen können, statt dessen betrug die Steigerung gegenüber dem Durchschnittswerte der 2 dem Versuchstage vorhergehenden und der 2 ihm folgenden Tage (5,199 g) nur 2,523 g; es sind demnach 41,5% der eingeführten inaktiven Phenyl- α -Milchsäure in Homogentisinsäure übergegangen.

Die gleiche Berechnung für die Phenylbrenztraubensäure gestaltet sich wie folgt:



Aus 164 g Phenylbrenztraubensäure können demnach 168 g Homogentisinsäure entstehen, aus den gegebenen 5,7 g also 5,835 g. Die Homogentisinsäureausscheidung an dem Versuchstage und dem darauf folgenden Tage ist gegenüber der Durchschnittszahl aus den beiden Vor-

¹⁾ Plöchl, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 16, S. 2815 (1883).

²⁾ Erlenmeyer jun., Liebigs Ann., Bd. 271, S. 137 (1892).

tagen und den beiden Nachtagen (5,763 g) um 5,803 g gesteigert, entspricht also fast genau der theoretisch berechneten Menge. Die Phenylbrenztraubensäure ist demnach annähernd quantitativ in Homogentisinsäure übergegangen.

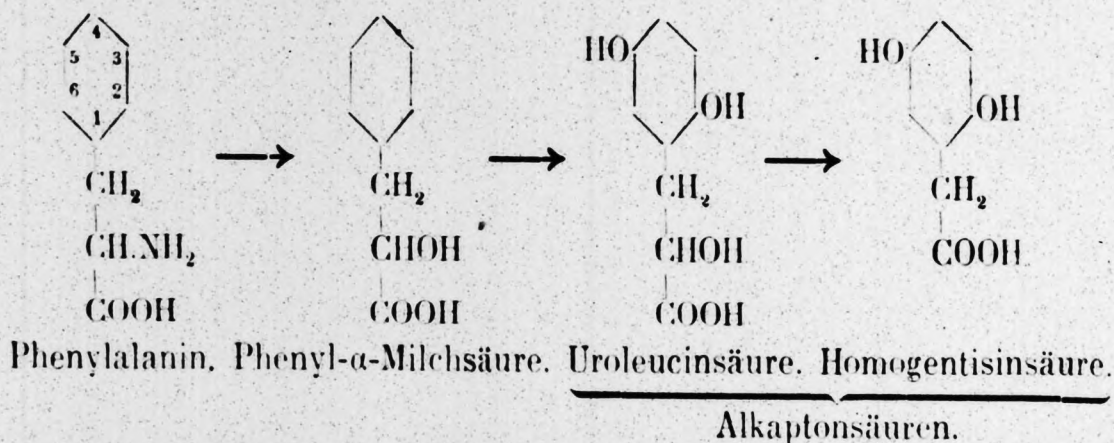
Aus dieser Versuchsreihe hat sich ergeben, daß nur die aromatischen α -Oxysäuren, ebenso wie die aus den Eiweißkörpern stammenden α -Aminosäuren in Homogentisinsäure übergehen. Es drängt sich daher der Gedanke auf, daß diese α -Oxysäuren im Organismus des Alkaptonurikers als intermediäre Produkte beim Abbau der aromatischen Aminosäurekomplexe des Eiweißes auftreten. In diesem Sinne lassen sich auch die oben erwähnten Versuche Schottens und Blendermanns über die Umwandlungsprodukte der Phenylaminoessigsäure und des Tyrosins im normalen Tierkörper verwerten: auch ihre Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Desaminierung die erste Veränderung ist, welche die aromatischen Aminosäuren im Stoffwechsel erfahren.

Auf welchem Wege die Phenylbrenztraubensäure in Homogentisinsäure übergeht, ob etwa zunächst eine Reduktion zu Phenyl- α -Milchsäure eintritt,¹⁾ bleibe dahingestellt.

Nach den vorangehenden Untersuchungen glauben wir also annehmen zu dürfen, daß beim Abbau der Aminosäuren im Organismus zunächst die entsprechenden Oxysäuren als Zwischenprodukte auftreten: zur Überführung der auf diese Weise aus dem Phenylalanin entstehenden Phenyl- α -Milchsäure in Uroleucinsäure wäre, wie ein Blick auf die Formeln zeigt, das Auftreten zweier Phenolgruppen in den Stellungen 2—5— anzunehmen. Der weitere Übergang der Uroleucinsäure in Homogentisinsäure²⁾ würde eine einfache CO_2 - und H_2O -Abspaltung unter Eintritt zweier Atome Sauerstoff darstellen.

¹⁾ Solche Reduktionen der Ketongruppe zur sekundären Alkoholgruppe wurden im Organismus schon beobachtet, z. B. beim Acetophenon. Siehe Otto Neubauer, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 46, S. 133 (1901.)

²⁾ Daß die Uroleucinsäure als Muttersubstanz der Homogentisinsäure aufzufassen ist, geht wohl aus ihrer von Huppert (a. a. O.) aufgestellten Strukturformel zur Evidenz hervor.



Beim Tyrosin liegen die Verhältnisse insofern komplizierter, als bei seiner Umwandlung in die Alkaptonsäuren die in der para-Stellung befindliche OH-Gruppe verschwindet. Da die von Blendermann¹⁾ nach reichlicher Tyrosinfütterung im Kaninchenharn gefundene *o*-Oxyphenylmilchsäure diese OH-Gruppe noch enthält, während sie den Alkaptonsäuren bereits fehlt, so muß der Verlust der OH-Gruppe zwischen diesen beiden Stufen angenommen werden. Diesen Verlust der OH-Gruppe kann man mit Wolkow und Baumann²⁾ als Reduktion auffassen, wobei allerdings zu bedenken ist, daß Reduktion einer Phenolgruppe im Organismus bisher noch nie beobachtet worden ist. Aus diesem Grunde wird man auch die Möglichkeit einer einfachen Verschiebung der OH-Gruppe, beziehungsweise der Seitenkette ins Auge fassen müssen: Analoga für solche Umlagerungen sind in der Chemie bereits bekannt.³⁾

Eingeführte Homogentisinsäure wird vom Normalen so gut wie vollständig verbrannt:⁴⁾ vom Alkaptonuriker dagegen wird sie

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

³⁾ s. Erich Meyer, Deutsches Archiv für klin. Medizin, Bd. LXX, S. 443 (1901).

⁴⁾ Embden, Diese Zeitschr., Bd. XVIII, S. 328. Bestätigt durch einen nicht veröffentlichten Versuch von Falta und Langstein. An dieser Stelle sei bemerkt, daß das Laktone der Homogentisinsäure im Organismus des Alkaptonurikers so gut wie quantitativ in die Säure übergeht und als solche im Harn erscheint; 3 g des Laktone, die uns von Herrn Dr. Erich Meyer in freundlichster Weise überlassen wurden, bewirkten eine Zunahme der Homogentisinsäure-Ausscheidung um 2,8 g. Siehe Tab. I 1. Juli. Die Zunahme des Reduktionsvermögens kann nur auf die freie Säure bezogen werden, da das Laktone nicht reduziert.

fast quantitativ wieder ausgeschieden, wie Embden¹⁾ gezeigt hat und Falta und Langstein²⁾ an unserem Patienten bestätigen konnten. Es muß darauf hingewiesen werden, daß dieses sicher festgestellte Unvermögen der Alkaptonuriker, die Homogentisinsäure zu verbrennen, allein vollständig genügt, um die Tatsache der Ausscheidung dieser Säure bei solchen Patienten verständlich zu machen. Es würde dem Prinzip, die einfachste ausreichende Erklärung für die richtige zu halten, widersprechen, wenn man auch schon die Bildung der Alkaptonsäuren als etwas Pathologisches ansehen wollte. Tatsächlich ist für eine solche Annahme auch nicht der geringste Anhaltspunkt vorhanden. Man wird so zu der Auffassung gedrängt, daß auch im normalen Organismus die Verbrennung der aromatischen Aminosäuren auf dem Wege über die Alkaptonsäuren erfolgt und daß die Störung bei der Alkaptonurie nur darin besteht, daß infolge einer Hemmung des Stoffwechsels der Abbau an diesem Punkte stehen bleibt. Ein vollkommenes Analogon würden die Stoffwechsel-Vorgänge bei der Pflanze bilden, wo nach den Untersuchungen von Czapek³⁾ in geotropisch gereizten Wurzelspitzen ebenfalls eine Hemmung des normalen über die Homogentisinsäure führenden Abbaus des Tyrosins statthat, welche zu einer Anhäufung von Homogentisinsäure in diesen Pflanzenteilen führt.

IV. Im aromatischen Kern zweifach hydroxylierte Säuren (Diphenolsäuren).

Aus dieser Auffassung der Alkaptonurie ergab sich weiter die Fragestellung, ob bei dieser Abnormität des Stoffwechsels der Organismus überhaupt das Vermögen verloren hat, den Benzolring aufzuspalten. Allerdings besitzt er auch unter normalen Verhältnissen diese Fähigkeit nur einigen wenigen aromatischen Verbindungen gegenüber. Die wichtigsten Beispiele sind eben das Phenylalanin und das Tyrosin. Wir haben, um der Lösung

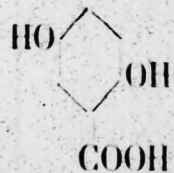
¹⁾ Embden. Ebenda S. 326.

²⁾ Nicht publizierter Versuch.

³⁾ Czapek, Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Bd. XXI, S. 229 (1903).

der gestellten Frage näher zu kommen, einige Versuche über das Verhalten anderer im normalen Körper aufspaltbarer aromatischer Verbindungen angestellt: wir haben zunächst die Diphenolsäuren in Betracht gezogen.

Gentisinsäure = 2 — 5 — Dioxybenzoesäure.



Wir stellten diese Säure durch Oxydation von Salicylsäure mittels Kaliumpersulfat in alkalischer Lösung dar.¹⁾

Schmelzpunkt 196° (unkorr.).

Vom normalen Tierkörper wird diese Säure, wie Likhatscheff²⁾ für den Hund gezeigt hat, zu einem gewissen Teil (11–18%) in Form einer Ätherschwefelsäure wieder ausgeschieden, zum weitaus größeren Teil aber offenbar verbrannt. Wir haben zunächst festgestellt, daß sie sich im normalen menschlichen Organismus ebenso verhält.

Versuch beim Normalen. S. Tabelle II. 3. Aug.

Verabreichte Menge 6,5 g.

Der Harn des Versuchstages gab zwar mit FeCl₃ eine blauviolette Färbung, zeigte aber gegen ammoniakalische AgNO₃-Lösung kein deutliches Reduktionsvermögen. Die Menge der Ätherschwefelsäuren zeigte gegenüber dem Mittel aus dem Vortag und Nachtag eine Vermehrung von 0,55 g, was einer Menge von 0,95 g Gentisinsäure entspricht, d. i. 15% der eingeführten Dosis. Der Rest kann wohl als vollkommen oxydiert angesehen werden.

Versuch beim Alkaptonpatienten. Tabelle I. 4. Juli 1903.

Verabreicht 4,46 g.

Homogentisinsäure (die gesamte Reduktion als Homogentisinsäure berechnet): 5,454 — **10,717** — 5,593

H : N 35,3 — **69,0** — 40,5

Die Zunahme des Reduktionsvermögens, auf Homogentisinsäure berechnet, beträgt demnach 10,717 — 5,523 = 5,194 g. Es war aber von vorneherein klar, daß diese Zunahme des Reduktionsvermögens offenbar nicht auf einer Steigerung der

¹⁾ D.-R.-P. Nr. 81297.

²⁾ Likhatscheff, Diese Zeitschr., Bd. XXI, S. 430 (1895/96).

Homogentisinsäure-Ausscheidung, sondern auf unveränderten Durchgang der verabreichten Gentisinsäure zu beziehen ist; denn ein Aufbau von Homogentisinsäure aus der eingeführten Gentisinsäure würde einen sehr komplizierten chemischen Prozeß darstellen. Es gelang uns auch in der Tat, aus dem Harn größere Mengen von Gentisinsäure auf folgendem Wege darzustellen. Der ätherische Auszug des angesäuerten Harns wurde abdunsten gelassen, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Essigsäure angesäuert und (zur Entfernung der Homogentisinsäure) mit Bleizuckerlösung gefällt; das Filtrat wurde mit H_2S entbleit, der Schwefelwasserstoff verjagt. Beim Stehen im Exsiccator krystallisierten Nadeln aus, die nach Reaktionen und Schmelzpunkt (196°) sich als Gentisinsäure erwiesen. Die Gentisinsäure wird demnach vom Alkaptonuriker — im Gegensatz zum Normalen — zum großen Teil unverändert wieder ausgeschieden. Die Menge der gepaarten Schwefelsäure erreichte am Versuchstage einen hohen Wert 1,295 g. Nimmt man die Menge des folgenden Tages (0,536 g) als Normalwert, so bedeutet dies eine Vermehrung um 0,759 g entsprechend 1.31 g Gentisinsäure = 29,4% der eingeführten Substanz.



2—4-Dioxybenzoesäure erhielten wir durch Erhitzen von Resorcin mit $KHCO_3$.¹⁾ Schmelzpunkt 206° (unkorr.).

Versuch beim Normalen. S. Tabelle II. 5. Aug. 1903. Verabreicht 6,2 g. Der Harn des Versuchstages reduziert ammoniakalische $AgNO_3$ -Lösung nicht; mit $FeCl_3$ gibt er eine rotviolette Färbung, die auf Zusatz von Sodalösung verblaßt.

Versuch beim Alkaptonuriker. S. Tabelle I. 13. Juli 1903. Verabreicht 6,0 g.

Reduktionsvermögen als Homogentisinsäure berechnet:

6,041 — **7,151** — 6,124.

H : N 44,5 — **49,6** — 47,0.

Am Versuchstage gibt der Harn mit $FeCl_3$ -Lösung eine intensive rotviolette Farbenreaktion, wie sie der 2—4-Dioxybenzoesäure zukommt; im Harn des folgenden Tages fiel diese Reaktion viel schwächer aus.

¹⁾ S. Beilstein, Handbuch d. org. Chem., Bd. II, S. 1735.



Protokatechusäure

= 3—4-Dioxybenzoesäure.

Käufliches Präparat (E. Merck).

Schmelzpunkt 194° (unkorr.).

Nach Tierversuchen von Baumann und Herter,¹⁾ sowie von Marfori²⁾ erscheint diese Säure zu einem Teile unverändert im Harn, zum größten Teil in Form von Ätherschwefelsäuren.

Versuch beim Normalen. S. Tabelle II. 1. August 1903.

Der Harn zeigt kein deutliches Reduktionsvermögen gegen ammoniakalische AgNO₃-Lösung; mit FeCl₃ gibt er eine Grünfärbung, die auf Zusatz von Sodalösung in Rot umschlägt.

Versuch beim Alkaptonuriker. S. Tabelle I. 15. Juli 1903.

Verabreicht 6,0 g.

Reduktionsvermögen als Homogentisinsäure berechnet:

6,123 — **6,606** — 5,271.

H : N 47,0 — **45,3** — 41,6.

Mit FeCl₃ zeigt der Harn dieselbe Reaktion wie der Harn des Normalen nach Protokatechusäurezufuhr.



Kaffeesäure = 3—4-Dioxyzimtsäure wurde von uns nach den Angaben von Hlasiwetz³⁾ aus Kaffeegerbsäure erhalten.

Schmelzpunkt 195°.

Versuch am normalen Kaninchen.

2,5 g subcutan injiziert. Der Harn der nächsten 24 Stunden reduziert ammoniakalische AgNO₃-Lösung nicht.

I. Versuch beim Alkaptonuriker.

S. Tabelle I. 30. September.

Verabreicht 4,0 g.

Reduktionsvermögen als Homogentisinsäure berechnet:

3,074 — **3,510** — 3,389.

H : N 40,0 — **41,9** — 40,2.

¹⁾ Baumann und Herter, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 263.

²⁾ Marfori, Arch. ital. de biol., Bd. 27, S. 139.

³⁾ Hlasiwetz, Liebigs Ann., Bd. 142, S. 358.

II. Versuch beim Alkaptonuriker. S. Tab. I. 7. Juli 1903.

Verabreichte Menge 6,0 g.

Reduktionsvermögen als Homogentisinsäure berechnet:

4,844 — **4,031** — 5,246.

H : N 31,6 — **31,8** — 41,5.

Der Harn zeigt mit FeCl_3 vorübergehende Grünfärbung.

Beim Alkaptonuriker zeigt also zunächst die Gentisinsäure ein vom Normalen abweichendes Verhalten. Beim Gesunden führt sie zwar zu einer Vermehrung der gepaarten Schwefelsäure, zum größten Teil wird sie aber offenbar verbrannt. Beim Alkaptonuriker tritt der Anstieg der Ätherschwefelsäuren ebenfalls ein, gleichzeitig erfährt aber das Reduktionsvermögen des Harns eine bedeutende Steigerung, welche, wie oben dargetan wurde, durch unverändert ausgeschiedene Gentisinsäure bedingt ist. Derjenige Teil, der unter gewöhnlichen Verhältnissen verbrannt wird, bleibt bei der Alkaptonurie unzerstört. Dies stimmt mit dem bereits bekannten Verhalten der Homogentisinsäure, die ja als das nächst höhere Homologe der Gentisinsäure zu betrachten ist, überein.

Dieses gleichartige Schicksal beider Säuren wirft ein Licht auf die Art der Stoffwechselforgänge, welche bei der Alkaptonurie gestört sind. Denn es zeigt, daß die Unfähigkeit der Patienten, die Homogentisinsäure zu verbrennen, nicht etwa in der Unangreifbarkeit der Seitenkette ihren Grund hat, sondern in dem Unvermögen, den Benzolring weiter zu verändern. Schließt man sich der oben begründeten Auffassung der Alkaptonurie als einer einfachen Hemmung normaler Stoffwechselforgänge an, so folgt daraus ohne weiteres, daß der normale weitere Abbau der intermediär gebildeten Alkaptonsäure nicht in der Seitenkette einsetzt, sondern daß zunächst die durch das Auftreten der beiden OH-Gruppen in der 2- und 5-Stellung bereits eingeleitete Veränderung des Benzolringes, die zu seiner schließlichen Sprengung führt, weiter fortschreitet.

Auch die 2—4-Dioxybenzoesäure hat beim Alkaptonuriker eine, wenn auch mäßige Vermehrung des Reduktionsvermögens des Harns herbeigeführt. Um einen einfachen Übertritt unver-

änderter Substanz in den Harn kann es sich dabei nicht handeln, da diese — als Abkömmling des Resorcins — nicht reduziert. Die Frage, ob sie etwa in eine andere Dioxysäure oder in eine Trioxysäure übergegangen ist, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Die Protokatechusäure und die Kaffeesäure, in welchen die beiden OH-Gruppen in 3—4-Stellung stehen, haben beim Alkaptonuriker keine deutliche Erhöhung der Reduktionskraft des Urins herbeigeführt: sie dürften sich also wie beim Normalen verhalten.

Wir kommen auf Grund unserer Versuche zu folgender Vorstellung über den Abbau der aus dem Eiweiß stammenden aromatischen Aminosäuren:

1. Das Phenylalanin wird zunächst auf dem Wege der Ersetzung der NH_2 -Gruppe durch eine OH-Gruppe in die entsprechende Alkoholsäure (Phenyl- α -Milchsäure) verwandelt (Stufe I).

2. Aus dieser entsteht, wahrscheinlich durch Eintritt zweier Phenolgruppen in der Stellung 2, 5, die Uroleucinsäure: diese kann durch Abspaltung von CO_2 unter Aufnahme zweier Atome O in Homogentisinsäure übergehen (Stufe II).

3. Die weitere Veränderung setzt am Benzolring ein und führt zu seiner schließlichen Auflösung.

4. Das Tyrosin verhält sich analog wie das Phenylalanin, nur muß eine Entfernung der in der Parastellung befindlichen OH-Gruppe angenommen werden, entweder durch Verschiebung, oder durch Reduktion zwischen Stufe I und II (p-Oxyphenyl- α -Milchsäure zu Phenyl- α -Milchsäure).

5. Bei der Alkaptonurie bleibt dieser Abbauprozess der aromatischen Aminosäuren auf Stufe II stehen.

Die Versuche mußten aus äußeren Gründen abgebrochen werden; wir hoffen jedoch, später Gelegenheit zu ihrer Fortführung zu haben. Über die Schicksale der aromatischen Oxy-säuren im normalen Organismus, welche die mitgeteilten Beobachtungen ergänzen und kontrollieren sollen, wird der eine von uns seinerzeit berichten.¹⁾

¹⁾ Schon an dieser Stelle sei mitgeteilt, daß weder die Phenyl- α -Milchsäure, noch die Phenyl- β -Milchsäure im Organismus des Kaninchens vollkommen verbrannt wird.

Tabelle I.

Versuchs- tag	Diät und verabreichte Substanz	Harn- menge	Spez. Gew.	Homogen- tisinsäure		N in g	H : N	Be- merkungen
				in ‰	in g			
28. IX. 02	120 g Rindfleisch Kohlenhydrate, Fett	2130	1,013	0,171	3,636	8,47	42,8	
29	›	1420	1,019	0,216	3,074	7,67	40,0	
30	› 4 g Kaffeesäure	2270	1,013	0,155	3,510	8,45	41,9	
1. X. 02.	› ¹⁾	1730	1,014	0,196	3,389	8,43	40,2	
2.	›	1400	1,018	0,278	3,897	9,80	40,0	
3.	›	1480	1,016	0,217	3,203	7,92	40,5	
6. X. 02.	120 g Rindfleisch 80 g Kalbfleisch Kohlenhydrate, Fett	1640	1,019	0,278	4,565	—	—	
7.	›	2080	1,015	0,227	4,718	10,72	44,1	
8.	› 5 g o-Cumarsäure	3070	1,013	0,155	4,748	11,52	41,3	
9.	›	1720	1,016	0,278	4,788	11,17	42,8	
10	›	1520	1,019	0,350	5,292	11,16	47,2	
28. X. 02.	›	1500	1,020	0,330	4,950	10,58	46,7	
29.	› 2,85 g p-Cumarsäure	2320	1,015	0,247	5,741	11,82	48,7	
30.	›	1830	1,017	0,289	5,273	11,30	46,6	
17. IV. 04.	150 g Rindfleisch 80 g Kalbfleisch Kohlenhydrate, Fett	1460	1,021	0,361	5,268	13,82	38,1	

Fortsetzung dieser Tabelle auf nächster Seite.

¹⁾ Das Zeichen › bezieht sich nur auf die Diät, nicht auf die verabreichten Säuren.

Versuchs- tag	Diät und verabreichte Substanz	Harn- menge	Spez. Gew.	Homogen- tisinsäure		N in g	H:N	Be- merkungen
				in %	in g			
18. IV. 04.	150 g Rindfleisch 80 g Kalbfleisch Kohlenhydrate, Fett	1900	1,017	0,309	5,877	15,42	38,1	
19.	6,0 g Phenyl- α-Milchsäure	2140	1,014	0,361	7,722	14,80	52,1	
20.	„	2180	1,014	0,217	4,720	14,34	33,0	
21.	„	2080	1,014	0,237	4,932	13,20	37,4	
22.	„	1610	1,018	0,330	5,317	14,70	36,2	
23.	6,2 g Phenyl- β-Milchsäure	2260	1,014	0,196	4,427	15,88	27,9	
24.	„	2470	1,012	0,175	4,329	13,83	33,2	
25.	„	1800	1,016	0,237	4,268	12,60	33,9	
26.	6,0 g Phenyl- glyzerinsäure	2010	1,013	0,196	3,973	13,90	28,6	
27.	„	2010	1,013	0,237	4,766	14,63	32,6	
3. V. 03.	„	1450	1,021	0,423	6,129	14,74	41,7	
4.	3,5 g Zimtsäure	2420	1,012	0,216	5,239	16,40	32,0	
5.	„	1880	1,016	0,330	6,208	13,16	47,0	
6.	„	1460	1,018	0,381	5,569	12,96	42,8	
7.	„	2130	1,013	0,258	5,490	13,48	40,7	
8.	„	2410	1,012	—	—	13,50	—	

Fortsetzung dieser Tabelle auf nächster Seite.

Versuchstag	Diät und verabreichte Substanz	Harn- menge	Spez. Gew.	Homogen- tisinsäure		N in g	H:N	Be- merkungen
				in %	in g			
9. V. 03.	150 gr Rindfleisch 80 gr Kalbfleisch Kohlenhydrate, Fett 4,0 g Cumarin	2580	1,012	0,216	5,586	13,87	40,2	
10.	„	2190	1,014	0,237	5,193	15,15	34,4	
11.	„	1860	1,014	0,320	5,945	13,82	43,0	
13. V. 03.	„	2160	1,014	0,237	5,122	—	—	
14.	„ 6,0 g Phenyl- propionsäure	2010	1,014	0,258	5,181	14,35	36,0	
15.	„	2180	1,013	0,237	5,168	—	—	
3. VI. 03.	„	1510	1,021	0,381	5,760	13,49	42,7	
4.	„	2760	1,010	0,196	5,407	14,92	36,3	
5.	„	2020	1,014	0,299	6,039	14,08	42,8	
6.	„ 5,7 g Phenylbrenz- traubensäure	2275	1,015	0,464	10,555	15,35	68,5	
7.	„	2120	1,014	0,320	6,776	14,31	47,3	
8.	„	1720	1,017	0,330	5,680	13,73	41,5	
29. VI. 03.	„	1330	1,020	0,40	5,35	14,71	35,9	
30.	„	2590	1,010	0,24	6,14	16,39	37,5	
1. VII. 03.	3,0 g Homogentisin- säure-Lakton	1420	1,021	0,63	8,93	15,11	59,1	
2.	„	1380	1,021	0,44	6,11	15,84	38,6	
3.	„	1250	1,023	0,443	5,454	15,15	36,3	
4.	„ 4,46 g Gentisinsäure	2310	1,014	0,464	10,717	15,52	69,0	Mit FeCl ₃ tief- blaue Färbung; später dunkel- blauer Nieder- schlag.

Fortsetzung dieser Tabelle auf nächster Seite.

Versuchs- tag	Diät und verabreichte Substanz	Harn- menge	Spez. Gew.	Homogen- tisinsäure		N in g	H: N	Be- merkungen
				in %	in g			
5. VII. 03.	150 gr Rindfleisch 80 gr Kalbfleisch Kohlenhydrate, Fett	2170	1,011	0,258	5,593	13,79	40,5	
6.	„	1740	1,018	0,278	4,844	15,35	31,6	
7.	6,0 g Kaffeesäure	2300	1,011	0,175	4,031	12,69	31,8	Mit FeCl ₃ sehr starke, vorüber- gehende Grün- färbung; auf Zusatz von mehr FeCl ₃ dauernde schmutzig- grüne Färbung
8.	„	2120	1,015	0,247	5,246	12,65	41,5	
9.	„	1640	1,016	0,278	4,575	11,48	40,0	
10.	„	2570	1,012	0,216	5,564	13,96	39,9	
11.	6,0 g Phenyllessig- säure	1560	1,016	0,330	5,152	—	—	
12.	„	2170	1,013	0,278	6,041	13,61	44,5	
13.	6,0 g 2-4-Dioxy- benzoesäure	1360	1,024	0,526	7,151	14,39	49,6	Mit FeCl ₃ intensive Rotfärbung.
14.	„	1320	1,021	0,464	6,124	13,45	47,0	Mit FeCl ₃ deutliche Re- violett-färbung
15.	6,0 g Protocatechu- säure	1490	1,023	0,443	6,606	14,56	45,3	Mit FeCl ₃ intensiv blau- grüne Färbung die auf Zusatz von Sodalösung in Rotviolett umschlägt.
16.	„	1190	1,023	0,443	5,271	12,66	41,6	

Tabelle II.
(Versuche am Normalen.)

Versuchs- tag	Verab- reichte Substanz	Harn- menge	Spez. Ge- wicht	Reduktions- vermögen für ammoniakal. AgNO ₃ - Lösung	Eisenchlorid	Schwefelsäure SO ₄	
						Ge- samt- SO ₄	Ge- paarte SO ₄
31. VIII. 03	ø	1640	1,019	ø	ø	—	0,449
1. IX. 03	4,0 g Proto- catechu- säure	2540	1,013	ø	Intensive Grün- färbung, die auf Zusatz von Soda- lösung in Rot umschlägt	2,589	0,853
2.	ø	2990	1,013	ø	ø	3,135	0,668
3.	6,5 g Gentisin- säure	4060	1,009	ø	Intensive Blau- violett-färbung	2,429	1,145
4.	ø	1650	1,015	ø	ø	2,155	0,541
5.	6,2 g 2-4-Dioxy- benzoe- säure	3740	1,013	ø	Rotviolette Färbung, die auf Zusatz von Soda- lösung verblaßt.	—	—
6.	ø	1850	1,017	ø	ø	—	—