

Über Cystinurie.

I. Mitteilung.¹⁾

Von

A. Loewy und C. Neuberg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 10. November 1904.)

Während eine ganze Reihe von Anomalien des Kohlehydratstoffwechsels bekannt sind — es sei nur an die Pentosurie, Lävulosurie, Laktosurie und die Glukuronsäureausscheidung erinnert, deren genauere Kenntnis das letzte Jahrzehnt zu dem Jahrhunderte alten Wissen von der Zuckerharnruhr gesellt hat —, gehören Anomalien des Eiweißstoffwechsels zu den Seltenheiten, sowohl hinsichtlich der Art wie der Häufigkeit ihres Vorkommens. Streng genommen ist überhaupt nur eine Erscheinung bekannt, bei der ein primäres kristallinisches Eiweißspaltprodukt ohne sekundäre Veränderung chronisch zur Ausscheidung gelangt, d. i. die Cystinurie.

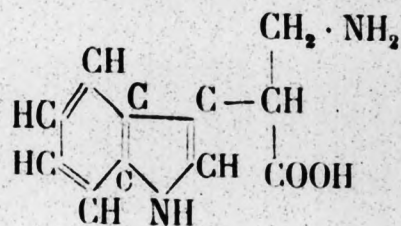
Übrigens ist die Annahme, daß jenes bei der Cystinurie ausgeschiedene Stoffwechselprodukt ein Eiweißabkömmling ist, erst jüngeren Datums und erst Gegenstand der Diskussion durch K. A. H. Mörners bedeutsamen Befund geworden, daß der Schwefel im Eiweißmolekül ganz oder zum größten Teil in Form einer bei der Hydrolyse Cystin liefernden Gruppe zugegen ist.

Seitdem ist auch die rein chemische Erforschung des Cystins zu Ende geführt. Baumann hatte bekanntlich diesem Körper, resp. dem Cystein, die Formel eines NH_3 -Additions-

¹⁾ Vorgetragen auf der 75. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Cassel am 22. September 1903. Vergl. Verhandl., S. 422.

produkts der Thiobrenztraubensäure $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{matrix} \text{SH} \\ \text{NH}_2 \end{matrix} - \text{COOH}$

zuerteilt, die bereits aus theoretischen Gründen höchst unwahrscheinlich ist. Daß sie tatsächlich nicht der richtige Ausdruck der Tatsachen ist, haben gleichzeitig E. Friedmann und C. Neuberg gezeigt. Ersterer hat seine Untersuchungen mit Cystin aus Hornsubstanz, also mit Proteincystin, angestellt, während Neuberg Steincystin benutzt hat. Nach Versuchen, über die Paul Mayer und Neuberg im Mai 1903 der deutschen chemischen Gesellschaft Mitteilung gemacht haben, sind beide Cystinformen nicht identisch, sondern isomer.¹⁾ Während Friedmann für das Proteincystein die Formel $\text{CH}_2 \cdot \text{SH} - \text{CH} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{COOH}$ einer α -Amino- β -thio-propionsäure bewiesen hat, konnten wir zeigen, daß dem Steincystein die Formel $\text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2 - \text{CH} \cdot \text{SH} - \text{COOH}$ der α -Thio- β -aminopropionsäure zukommt, d. h. beide Formeln stehen zu einander im Verhältnis von Serin zu Iso-serin. Diese Isomerieerscheinung bietet ein besonderes Interesse, da hier zum ersten Male unter tierischen Stoffwechselprodukten eine β -Aminosäure nachgewiesen ist, konnte doch F. Hofmeister auf der Karlsbader Naturforscherversammlung (1902) noch betonen, daß der Organismus nur α -Aminosäuren hervorbringe. Nachdem inzwischen A. Ellinger²⁾ für das Tryptophan die Formel



d. h. einer Indol- β -aminopropionsäure, wahrscheinlich gemacht hat und auch Levene³⁾ Aminosäuren begegnet ist, die von denen der α -Reihe verschieden sind, gilt jene Regel nicht mehr in voller Strenge.

¹⁾ Die ausführliche Mitteilung wird demnächst in dieser Zeitschrift erscheinen.

²⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 37, S. 1804 (1904).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 100.

Außer, wie man sie wohl genannt hat, den Nierenedelnsteinen und den Eiweißkörpern gibt es bekanntlich eine dritte natürliche Fundstätte des Cystins, eben den Harn der Cystinuriker. Einem günstigen Zufall ist es zu danken, daß wir nach dieser Richtung die neu erworbene Kenntnis vom Cystin erweitern konnten. Der eine von uns (Loewy) hatte gerade einen ausgesprochenen Fall von Cystinurie, einen Patienten, der täglich ca. 0.5 g Cystin ausscheidet. Dieser Fall repräsentiert ein medizinisch besonders wertvolles Dokument, da der betreffende Patient seit 18 Jahren bereits mit Cystinurie behaftet ist. Derselbe ist in dieser Zeit in den Händen der verschiedensten Forscher Gegenstand klinischer Untersuchungen gewesen, deren Vervollständigung nach der physiologisch-chemischen Seite hin wir unternommen haben.

Bei der Existenz zweier verschiedener Cystinformen war es die nächste Aufgabe, festzustellen, welches der beiden Isomeren der Cystinuriker ausscheidet. Unsere Überraschung war nicht gering, als sich ergab, daß Harn- und Horneystin identisch waren, während man a priori die Identität mit dem Steineystin hätte erwarten sollen. Man ist zur Zeit außer stande, mehr als Vermutungen über diese eigentümlichen Verhältnisse, namentlich bezüglich der Abstammung des Steineystins, zu äußern.

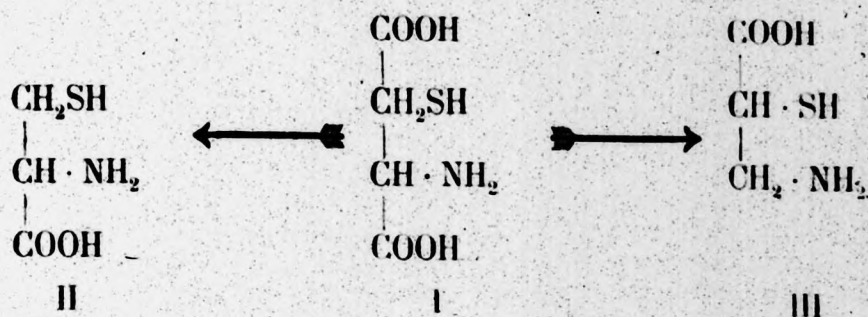
Vielleicht darf man im Eiweißmolekül — einer schon von Baumann¹⁾ ausgesprochenen Ansicht folgend — die Existenz eines Karboxycysteins²⁾ (I), resp. Karboxycystins, (Thio-aminobernsteinsäure)

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 583 (1895).

²⁾ Anm. Diese Hypothese gewinnt vielleicht an Wahrscheinlichkeit durch Skraups Entdeckung einer natürlich vorkommenden entsprechenden Sauerstoffverbindung, der Oxyaminobernsteinsäure



die in analoger Weise Muttersubstanz von Serin und Iso-serin sein kann. Übrigens ist nach K. A. Mörners neuesten wichtigen Mitteilungen (Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 349 u. 370 [1904]) ein gleichzeitiges Vorkommen der beiden Cystinformen im Eiweiß sehr wahrscheinlich geworden. Man muß dann annehmen, daß der Organismus eine Trennung beider Isomeren bei der Steinbildung vornimmt.



annehmen, das durch $\text{CO}_2 =$ Abspaltung an verschiedenen Stellen sowohl in Proteincystein (II) wie Steincystein (III) übergehen könnte.

Jedenfalls gewinnt durch die Feststellung der Identität von Protein- und Harncystin die übrigens niemals bewiesene und durch die Auffindung zweier Cystinformen ernstlich in Frage gestellte Abstammung des Harncystins aus dem Eiweiß erheblich an Wahrscheinlichkeit. Trifft die Annahme dieser Herkunft zu, so erscheint die Cystinurie als eine Anomalie des Proteinstoffwechsels, bei welcher der Organismus der Fähigkeit ermangelt, beim physiologischen Abbau von Eiweißkörpern entstandenes Cystin in gewohnter Weise zu verwerten.

Dieser Ideengang erweckte in uns die Vermutung, daß es sich bei der Cystinurie um eine allgemeine Störung des Aminosäurenstoffwechsels handeln könne, die sich nicht allein auf das Cystin beschränkt. Die Untersuchung des Cystinlarns ergab hierfür zunächst keinerlei Anhalt. Die Untersuchung auf andere Aminosäuren im Urin unseres Patienten verlief völlig resultatlos, so daß abgesehen von der Cystinausscheidung der Harn gänzlich normale Zusammensetzung zeigt und insbesondere die Zahlen für Stickstoff, neutralen Schwefel, H_2SO_4 und Ätherschwefelsäure innerhalb der üblichen Grenzen liegen. Außerdem — worauf besonders hingewiesen werden muß — war der Harn unseres Patienten dauernd frei von Diaminen, die bekanntlich Baumann, Brieger und Stadthagen sowie andere Autoren gelegentlich in Gefolgschaft der Cystinurie auftreten sahen.

Und doch handelt es sich bei der Cystinurie um eine Störung des Aminosäurestoffwechsels in großem Stil; das offenbarte sich, als wir dazu übergingen, das Schicksal einiger Eiweißspaltprodukte im Organismus des Cystinurikers zu ver-

folgen. Bekanntermaßen, und wie wir von neuem uns ad hoc überzeugt haben, verschwinden per os eingeführte Aminosäuren, wie Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure, Cystin als solche spurlos, wenn man sie einem normalen Organismus einverleibt, indem sie in die Oxydationsprodukte, in CO_2 , NH_3 , resp. Harnstoff und Sauerstoffverbindungen des Schwefels übergehen. ¹⁾ Ganz anders beim Cystinuriker: um es vorwegzunehmen, hier erscheinen verabreichte α -Aminosäuren fast quantitativ und vollständig unverändert im Harn. Besonders interessant sind die Versuche mit den beiden Cystinformen.

Verabreicht man dem Cystinuriker Proteincystin, dasselbe, das er ausscheidet, in einer Menge von 6 g, so addiert er dieses glatt zu seiner täglichen Ausscheidung. Im normalen Organismus verhält sich das Proteincystin total anders. J. Wohlgemuth²⁾ hat festgestellt, daß im Leibe des Kaninchens Cystin, soweit es resorbiert ist, oxydiert wird und zwar zum Teil zu Taurin, während der Rest in Form von Sulfaten und unterschwefligsaurem Salz durch den Harn ausgeschieden wird. Die totale Zerstörung des Cystins im Organismus des Hundes hat schon früher Goldmann³⁾ bewiesen, und wir haben festgestellt, daß ein normaler Mensch 8 g Cystin total verbrennt, gleichfalls unter Bildung von Sulfaten und Thiosulfaten.

Dagegen verhält sich der Cystinuriker gegenüber dem isomeren Steincystin, wie der Gesunde zu Proteincystin;⁴⁾ d. h. dasselbe verschwindet als solches, dafür tritt eine fast entsprechende Vermehrung der Sulfate und namentlich des neutralen Schwefels ein. Dieser Versuch zeigt in schöner Weise auch die physiologische Ungleichheit der beiden Cystinformen.

Bezüglich der Ausscheidungsverhältnisse nimmt nun das Proteincystin durchaus keine Sonderstellung unter den α -Aminosäuren ein, denn der Versuch ergab, daß von 6 g Tyrosin

¹⁾ Siehe E. Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 207 (1904).

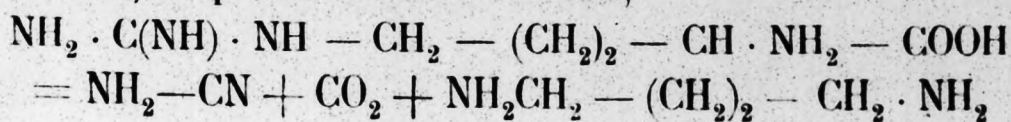
²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 98 (1903).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 206.

⁴⁾ Leider haben wir nicht Material genug gehabt, um auch beim normalen Menschen Steincystin zu verfüttern.

ca. 5 g, von 5 g Asparaginsäure ca. 3,4 g im Harn wiedergefunden werden. Ausdrücklich möchten wir betonen, daß die Wahl der genannten Aminosäuren lediglich in Rücksicht auf analytische Verhältnisse, auf die Leichtigkeit des Nachweises,¹⁾ erfolgt ist, es unterliegt kaum einem Zweifel, daß jede andere Monoaminosäure der α -Reihe ganz das gleiche Verhalten zeigt.

Auch die Diaminosäuren haben wir in den Kreis unserer Versuche gezogen und zwar mit Arginin und Lysin experimentiert. Das Verhalten dieser Substanzen im Organismus des Cystinurikers ist ein ganz absonderliches. Im Gegensatz zu den Monoaminosäuren erleiden diese Körper nämlich eine Veränderung: allein dieselbe führt nicht etwa zu den Oxydationsendprodukten, sondern betrifft nur einen Teil des Moleküls. Bei dem Versuch, die verabreichten Diaminosäuren in Form ihrer Phenylcyanatverbindung im Harn nachzuweisen, stießen wir auf Substanzen, die sich als die entsprechenden Derivate der Diamine entpuppten, und zwar erhielten wir nach Verfütterung von Lysin Cadaverin, nach Arginin das Putrescin. Wie schon vorher erwähnt, hat sich der gewöhnliche Harn unseres Cystinurikers stets frei von Diaminen erwiesen: ihre Bildung läßt sich künstlich durch Verfütterung von Diaminosäuren erzielen, und die Tatsache, daß nach Verabfolgung von Lysin $\text{CH}_2\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{COOH}$ gerade Pentamethyldiamin $\text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$, nach Arginin $\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{NH}) - \text{NH} \cdot \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH} \cdot \text{NH}_2 - \text{COOH}$ Tetramethyldiamin $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}_2\text{NH}_2$ auftritt, schließt jede andere Deutung als die einer Abstammung aus den genannten Diaminosäuren aus. Es handelt sich — unseres Wissens — hier um den ersten Fall, wo man direkt in vivo den Prozeß einer fermentativen CO_2 -Abspaltung demonstrieren kann, beim Arginin findet außerdem noch die Loslösung eines Cyanamids, resp. Harnstoffrestes statt,



¹⁾ Die Versuche sind vor der Veröffentlichung der Naphtalinsulfochloridmethode angestellt.

d. h. es verhalten sich die Diaminosäuren im Organismus genau wie bei den Reagensglasversuchen von Ellinger¹⁾.

Leider haben wir bisher bei unserem Cystinuriker nicht entscheiden können, ob die CO₂-Abspaltung durch geformte oder ungeformte Fermente, durch Enzyme oder Darmbakterien, besorgt wird, denn unser Patient hat sich bisher zu subkutanen Eingriffen nicht bewegen lassen.²⁾

Jedenfalls ist an einer Abstammung der Diamine von den entsprechenden Diaminosäuren nicht zu zweifeln und Baumanns Erklärung ihrer Entstehung durch Oxydation von Alkylmonoaminen nicht zutreffend.

Betrachten wir die Gesamtheit unserer experimentellen Ergebnisse, so läßt sich auf Grund derselben die Cystinurie als eine Anomalie des Eiweißstoffwechsels der folgenden Art präzisieren.

Der Cystinuriker vermag von den Eiweißspaltprodukten, die in seinem Organismus durch physiologische Prozesse entstehen, das Cystin nicht in normaler Weise zu verwerten und scheidet einen Teil derselben aus; die übrigen Eiweißspaltprodukte unterliegen ihrem gewohnten Schicksal. Verabfolgt man letztere aber in Form freier, isolierter Aminosäuren, so vermag er letztere im Gegensatz zum normalen Organismus nicht mehr zu verbrennen, und zwar verlassen α -Monoamino-säuren den Organismus völlig unverändert. Ein prinzipiell gleiches Schicksal erleiden die viel basischeren Diaminosäuren, doch wird aus letzteren der so wie so locker haftende Rest der CO₂ abgespalten, und es kommt zu einer experimentellen Diaminurie.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 31, S. 3183 (1899).

²⁾ Inzwischen ist A. Kossel und Dakin (Diese Zeitschr., Bd. XL, S. 321 [1904]) die interessante Auffindung eines Fermentes gelungen, das Arginin unter Abspaltung von Harnstoff in α - δ -Diaminovaleriansäure verwandelt. Aus dieser, dem Ornithin, kann dann durch CO₂-Loslösung das Tetramethyldiamin entstehen. Durch die Entdeckung der Arginase wird unser Befund des Sonderlichen, das ihm für uns zunächst (d. h. im Herbst 1903) anhaften mußte, entkleidet; zugleich eröffnet sich die Möglichkeit, durch Ausführung subkutaner Argininversuche am Cystinuriker die Wirksamkeit des harnstoffabspaltenden Fermentes in vivo zu zeigen.

Obgleich unsere Versuche bisher nur an einem Cystinuriker ausgeführt sind, liegt kein Grund zur Annahme vor, daß sich andere Fälle wesentlich abweichend verhalten. Dagegen ist es sehr wahrscheinlich und aus den vorhandenen Literaturangaben eigentlich ohne weiteres ersichtlich, daß es ähnlich wie beim Diabetes verschiedene Grade von Cystinurie gibt: das folgt aus der ganz verschiedenen Höhe, welche die Cystinausscheidung annehmen kann. Mit dieser Anschauung steht im besten Einklang, daß man gerade in den schweren Fällen von Cystinurie Diaminausscheidung beobachtet hat, die demnach und nach unseren Experimenten der Ausdruck einer fortgeschritteneren Störung des Aminosäurenstoffwechsels ist.

Das Ergebnis unserer Versuche berechtigt uns zu dem Schlusse, daß wir in der Cystinurie eine der interessantesten Anomalien auf dem wichtigsten aller Stoffwechselgebiete, dem des Eiweißes, besitzen. Die weitere experimentelle Verfolgung dieser Verhältnisse, von denen wir die chemische und biologische Blutuntersuchung bereits in Angriff genommen haben, eröffnet eine ganze Reihe von Perspektiven.

Wohl die wichtigste Frage, die sich auf Grund unserer Versuche erhebt, ist die, ob es überhaupt bei dem physiologischen Abbau der Eiweißstoffe im Organismus des Menschen zu einer weitgehenden Aufspaltung in kristallisierende Produkte kommt. Ist dieses der Fall, so ist es schwer verständlich, warum der Cystinuriker, für den wir das Unvermögen nachgewiesen haben, per vias naturales eingeführte einfache Spaltungsprodukte, wie Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure, zu verbrennen, diese Aminosäuren nicht auch normalerweise ausscheidet. Die Eigenstellung des Cystins mag in einer besondern, vielleicht lockeren Art der Bindung im Eiweißmolekül bedingt sein, wofür auch manches im chemischen Verhalten dieser Gruppe spricht.

Diese wichtige Frage ist durchaus nicht der Beantwortung durch das Experiment unzugänglich. Versuche mit Peptiden, Peptonen und Albumosen, die wir begonnen haben, müssen ja die Grenze zeigen, von der ab die Ausscheidung unterbleibt und die Ausnutzung im Organismus beginnt: und so steht zu

hoffen, daß die bisher eigentlich mehr als Kuriosität betrachtete Cystinurie, bei den überraschenden Versuchsbedingungen, die sie bietet, berufen ist, für die Ernährungsphysiologie einige sichere Entscheidungen im gegenwärtigen Widerstreit der Meinungen zu erbringen. Ist es doch eine alte Erfahrung, daß uns die Natur in ihren Anomalien oft ungeahnte Einblicke in die Geheimnisse sonst verschlossener Gebiete verstattet.

Krankenbericht.

Herr O. N., Kaufmann, war zur Zeit der Versuche 54 Jahre alt. Er stammt aus einer Familie, in der Steinleiden häufig sind. Der Vater litt an Gallensteinen, verschiedene Geschwister des Vaters litten an Gallen-, Nieren-, Blasensteinen.

Herr N. selbst hatte zuerst im Jahre 1879 einen Anfall von Nierenkolik, später in den Jahren 1883–84 wieder verschiedene Anfälle, wobei Gries und ein dattelnartiger Stein abgingen. Im Jahre 1886 wurde dann Cystin im Harn entdeckt. Herr N. besucht seit 1880 Karlsbad — bis jetzt 17 mal —, bei den dortigen Harnuntersuchungen wurde das Cystin, seitdem es zum ersten Male festgestellt war, stets wieder gefunden. — Weitere Fälle von Cystinurie kommen, soweit ermittelt werden konnte, in der Familie nicht vor.

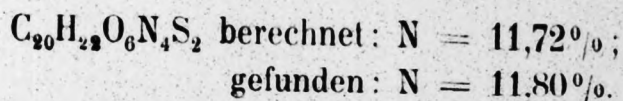
Beschwerden hat der Kranke von seiner Affektion keine, nur macht sich die Cystinausscheidung subjektiv bemerklich als Prickeln in der Harnröhre, sobald der Harn konzentriert und damit prozentisch reicher an Cystin ist. Herr N. ist sonst — bis auf allgemeine Nervosität — gesund.

Experimentelles.

I. Über die Natur des Harncystins.

Für unsere Versuche standen uns 10 l Harn zur Verfügung, die an 6 aufeinanderfolgenden Tagen gelassen waren, sowie 3¹/₂ l, die aus verschiedenen Nachtportionen stammten. Zu dem mit Chloroform konservierten Urin wurde Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion gefügt und nach einigen Tagen das Sediment abfiltriert. Zur Befreiung von Uraten und anderen Verunreinigungen wurde es aus heißem Ammoniak von ca. 10% umkristallisiert. So erhielten wir 4,063 g des reinen Präparates.

Die Verbindung gab nicht die Bambergersche¹⁾ Hydroxamsäurereaktion; die Phenylcyanatverbindung,²⁾ die wir aus 2,40 g darstellten, zeigte den Schmelzpunkt 160° (korr.) unter Aufschäumen; eine Stickstoffbestimmung kontrollierte die Reinheit der Substanz.



Danach ist das Harncystin mit dem Proteincystin unzweifelhaft identisch.

II. Die Zusammensetzung des gewöhnlichen Cystinharns.

Zur Bestimmung des Stickstoffs und der verschiedenen Schwefelformen diente eine Tagesmenge von 1650 ccm.

Bei Beginn der Verarbeitung hatte sich bereits ein beträchtliches Sediment von Cystin gebildet; um dessen Abscheidung möglichst zu vervollständigen, wurde der mit Chloroform konservierte Harn mit 2 ccm Eisessig versetzt, der nach 48stündigem Stehen gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und nach Verdunstung des anhaftenden Chloroforms aus heißem Ammoniak umkristallisiert. Isoliert wurden 0,431 g Cystin.

In 10 ccm des Filtrats wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt; der Gehalt daran betrug 0,0796 g.

Die Ermittlung der Schwefelformen geschah in der üblichen Weise nach Salkowski in dem vom auskristallisierten Cystin befreiten Harn.

In 100 ccm betrug die Gesamtschwefelsäure	0,1360 g
„ 50,0 „ „ Menge der Gesamtschwefelsäure + neutralem Schwefel	0,0788 „
„ 50,0 „ ergab sich die Quantität der Ätherschwefelsäure zu	0,0064 „
Die Menge nach Harnsäure, ermittelt nach Salkowski-Ludwig, betrug in 150 ccm	0,0473 „
Die Quantität des Harnstoffs war in 5,0 ccm	0,0737 „

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 36, S. 711 (1903); das isomere Steincystin zeigt positiven Ausfall bei dieser Probe.

²⁾ Dieselbe ist inzwischen auch von Patten, aber nicht in ganz reinem Zustande, erhalten.

Daraus ergibt sich folgende Zusammensetzung des Harns, welche, abgesehen von der Cystinausscheidung, vollständig die eines normalen Urins ist.

Gesamtmenge:	1650 ccm
N-Gehalt	13,1340 g
Gesamt-S (als H ₂ SO ₄)	2,6004
Gesamtschwefelsäure	2,2440
Ätherschwefelsäure	0,2112
Neutraler S (als H ₂ SO ₄)	0,3564
Harnsäure	0,5203
Harnstoff	24,3210

Die Menge des ausgeschiedenen Cystins wurde in der angegebenen Weise an mehreren Tagen bestimmt. Sie betrug 0,486 g, 0,507 g und 0,439 g; im Mittel also **0,466 g**.

Nach der Filtration vom ausgeschiedenen Cystin zeigte der leicht essigsäure Harn auch nach starker Konzentration keinerlei Drehungsvermögen: durch Behandlung mit Benzoylchlorid nach E. Goldmann und Baumann¹⁾ wurden nur Spuren des entsprechenden Cystinderivats, aber keine andere Aminosäure aufgefunden. Die Millonsche Reaktion war auch im frischen Harn negativ.

Die Prüfung auf Diamine, deren Gegenwart sich übrigens auch bei der Behandlung mit Benzoylchlorid hätte zeigen müssen, nahmen wir an einer neuen, gleichfalls von Cystin möglichst befreiten Harnportion nach den Angaben von Baumann und v. Udránszky²⁾ vor: wir konnten jedoch auch nicht Spuren von Basen auffinden.

Unser Fall von Cystinurie gehört also zu denen, die ohne Ausscheidung von Diaminen verlaufen; letztere sind wohl überhaupt häufiger, denn nur in 3 Fällen, dem erwähnten von Baumann und Udránszky²⁾ und in zweien von L. Brieger und Stadthagen,³⁾ ist diese Kombination bisher exakt nachgewiesen.

¹⁾ E. Goldmann und Baumann. Diese Zeitschrift. Bd. XII. S. 254 (1888).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 564 (1889).

³⁾ Berliner klin. Wochenschr., 1889, S. 345. und Virchows Archiv. Bd. 115, S. 490.

III. Verhalten der Monoaminosäuren beim Cystinuriker.

A. Tyrosin.

Die Versuchsperson erhielt 6,02 g reinstes, mehrfach umkristallisiertes, durch Trypsinverdauung von Fibrin dargestelltes optisch aktives¹⁾ Tyrosin (eingerührt in Kartoffelbrei). Der innerhalb 48 Stunden gesammelte Harn (fast 3 l) gab eine enorme Rötung mit Millons Reagens: er enthielt mehrere Stunden nach der Ausscheidung ein Sediment, das sich auf Zugabe von Essigsäure (unter Toluolzusatz) bei zweitägigem Stehen noch vermehrte. Der Niederschlag bestand, wie der negative Ausfall der Millonschen Probe lehrte, aus Cystin, das frei von Tyrosin war.

Zur Isolierung des letzteren wurde das essigsäure Filtrat auf etwa 40 ccm auf dem Wasserbade konzentriert; schon beim Einengen kristallisierte reichlich Tyrosin aus, dessen Abscheidung durch mehrtägiges Stehen im Eisschrank vervollständigt wurde. Dasselbe wurde dann auf der Nutsche abgesaugt, wiederholt mit kaltem Wasser gewaschen und schließlich aus siedendem Ammoniak unter Zusatz einer Messerspitze Knochenkohle umkristallisiert. So resultierten 4,82 g weißes Tyrosin, dessen Reinheit durch die Analyse kontrolliert wurde.

Berechnet für $C_9H_{11}O_3N$: C = 59,67%; H = 6,08%

Gefunden: C = 59,53%; H = 6,30%

B. Asparaginsäure.

Die Versuchsperson erhielt auf demselben Wege 5,0 g reine Asparaginsäure. Der innerhalb 48 Stunden entleerte Harn — 2850 ccm — wurde mit Essigsäure versetzt, vom auskristallisierten Cystin abfiltriert, mit Bleiessig ausgefällt,

¹⁾ Hier wie in allen Fällen wurden die natürlichen, optisch aktiven Aminosäuren verfüttert. Da es sich bei der Cystinurie um eine allgemeine Störung des Aminosäurenstoffwechsels handelt, kann man hier die in vielen Beziehungen wichtige Frage nach dem physiologischen Verhalten der optischen Antipoden und Racemverbindungen dieser Eiweißspaltprodukte im Organismus verfolgen. Solche Versuche, die sich bis zum gewissen Grade auch bei der Phosphorvergiftung oder Leberatrophy anstellen lassen, möchten wir uns vorbehalten.

auf ein kleines Volumen verdampft, nach zweitägigem Stehen in der Kälte von den geringen, wiederum entstehenden Ausscheidungen abfiltriert und nunmehr mit einer konzentrierten Lösung von Quecksilberacetat versetzt. Der massige weiße Niederschlag wurde abgesaugt, erst mit Quecksilberacetatlösung, dann mit Wasser ausgewaschen und in fein zerriebenem Zustande in wässriger Suspension mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das klare Filtrat vom Quecksilbersulfid wurde auf dem Wasserbad zum Sirup eingedampft, der nach genauer Neutralisation mit Ammoniak (Fortkochen eines geringen Überschusses), mit einer gesättigten Lösung von essigsauerm Kupfer versetzt, die sofort das in lichtblauen Nadeln kristallisierende Kupfersalz zur Abscheidung brachte. Das nach einigem Stehen abfiltrierte Kupfersalz wurde erst in der Kälte, dann auf dem Wasserbade mit H_2S zerlegt: die durch kolloidales Schwefelkupfer getrübe Flüssigkeit konnte durch Zusatz von Bleikarbonat und erneutem Einleiten von Schwefelwasserstoff völlig geklärt werden und lieferte beim Eindampfen analysenreine Asparaginsäure in einer Menge von 3,37 g.

Berechnet für $C_4H_7NO_4$: C = 36,09%; H = 5,26%; N = 10,53%

Gefunden: C = 35,88%; H = 5,40%; N = 10,58%

C. Proteincystin.

Der Cystinuriker erhielt 6 g reines, schneeweißes, mehrfach umkristallisiertes Cystin, das aus Menschenhaar dargestellt war: die Verbindung wurde wiederum in Kartoffelbrei verabfolgt. Der dieses Mal 72 Stunden gesammelte Harn — 5230 ccm — zeigte ein hohes, dichtes Sediment von Cystin. Leider erhielten wir nur den Mischharn von drei Tagen, sodab wir über die Schnelligkeit der Ausscheidung vom eingeführten Cystin nicht orientiert sind. Die Cystinmenge am Tage vor Beginn des Versuches betrug 0,388 g. Die Quantität des als Sediment abgesetzten und nach Konzentration auf ca. 250 ccm bei essigsaurer Reaktion auskristallisierten Cystins betrug zusammen 7,04 g. Subtrahiert man von dieser Zahl die tägliche Ausscheidung von etwa 0,4 g und zieht den in Lösung verbliebenen (nicht bestimmten) Cystinanteil in Betracht, so ist

ersichtlich, daß annähernd das ganze zugeführte Cystin wieder ausgeschieden wird.

Die aus Ammoniak einmal umkristallisierte Thioamino-säure wurde durch eine Stickstoffbestimmung auf ihre Reinheit kontrolliert.

Berechnet: N = 11,67%

Gefunden: N = 11,80%

D. Steincystin.

Der Versuchsperson wurden in gleicher Weise 3,52 g mehrfach umkristallisiertes Cystin aus menschlichen Steinen beigebracht. Der während 48 Stunden gesammelte Harn — 3070 ccm — wies kein gegen die Norm verstärktes Sediment auf. Die in der mehrfach angegebenen Weise isolierte Menge des Cystins betrug nur 0,866 g, d. h. nicht mehr als der gewöhnlichen täglichen Ausscheidung entspricht.

Ein Teil des filtrierten Harns diente zur Bestimmung des Stickstoffs und Ermittlung der Schwefelformen.

In 10 ccm wurden 0,0822 g N gefunden.

Die Gesamtschwefelsäure betrug in 100 ccm: 0,2084 g.

In 50 ccm wurden 0,0072 g Ätherschwefelsäure gefunden.

Die Quantität der Gesamtschwefelsäure + neutralem Schwefel wurde in 50 ccm zu 0,1340 g bestimmt.

Vergleicht man diese Zahlen mit den entsprechenden für die Schwefelformen des gewöhnlichen Cystinharns (siehe S. 347), so ist ersichtlich, daß eine erhebliche Zunahme der Sulfate und der sogenannten neutralen Schwefelverbindungen erfolgt ist.

Bei der Prüfung des Harns in der von E. Salkowski¹⁾ sowie von J. Wohlgemuth²⁾ angegebenen Weise zeigte sich ein beträchtlicher Gehalt an unterschwefligsaurem Salz.

Das Schicksal des Steincystins ist im Organismus des Cystinurikers demnach ganz verschieden von dem des Proteincystins, indem es der totalen Oxydation zu Säuren des Schwefels anheimfällt.

¹⁾ Virchows Archiv, Bd. 66, S. 315.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 85.

IV. Verhalten der Diaminosäuren beim Cystinuriker.**A. Lysin.**

In der mehrfach angegebenen Weise wurden der Versuchsperson 6,1 g rechtsdrehendes Lysindichlorid verabfolgt. Die Menge des 48 Stunden gesammelten Harns betrug 2940 ccm, die Menge des Cystins 0,588 g. Der vom ausgeschiedenen Cystin befreite Harn wurde schwach mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wurde nach Kossels Angaben mit Baryt zerlegt: nach Entfernung des Barytüberschusses durch CO_2 resultierte eine total optisch inaktive, stark alkalische Lösung, aus der wir nach Herzogs Vorschrift¹⁾ die Phenylcyanatverbindung darzustellen suchten. Das Verhalten der mit NaOH versetzten Lösung zu Phenylcyanat war jedoch ein ganz ungewöhnliches: jeder Tropfen des einfallenden Isocyanats hatte unter deutlicher Erwärmung die sofortige Abscheidung eines voluminösen Niederschlags zur Folge. Als sich dessen Menge auf erneuten Cyanatzusatz nicht mehr vermehrte, wurde er abfiltriert (Niederschlag I) und das Filtrat aufs neue mit 3 ccm Phenylcyanat und 20 ccm $n/1$ - NaOH unter Kühlung mehrere Stunden bis zum Verschwinden des stechenden Geruches geschüttelt. Nach Filtration vom ausgeschiedenen Diphenylharnstoff wurde mit HCl angesäuert: es entstand jedoch kein eigentlicher Niederschlag, sondern es fielen nur einige, wie Aluminiumhydroxyd aussehende Flocken aus (Fällung II), die wegen ihrer minimalen Menge nicht weiter untersucht werden konnten.

Der dichte Niederschlag I wurde nunmehr untersucht. Durch seine fast völlige Unlöslichkeit, selbst in siedendem Alkohol, zeigte sich, daß er nicht aus Diphenylharnstoff bestand. Als einziges brauchbares Lösungsmittel erwies sich Pyridin, woraus die Verbindung auf vorsichtigen Zusatz von Wasser in schneeweißen Kristallen ausfällt. Nach nochmaliger Wiederholung dieses Verfahrens besitzen letztere den konstanten Schmelzpunkt 207° ; die Quantität betrug 2,930 g.

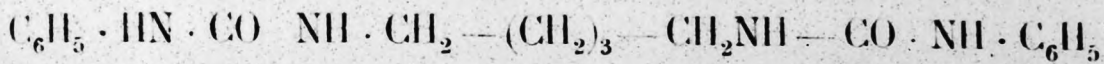
¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXXIV. S. 524.

Die Unlöslichkeit in Alkali lehrte, daß die Verbindung keine Karboxylgruppe besitzt. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,1185 g Substanz ergaben 0,2904 g CO₂ und 0,081 g H₂O.
0,1379 " " " " 20,4 ccm N bei 20° und 750 mm.

Daraus ergibt sich C = 66,74%; H = 7,46%; N = 16,29%.

Diese Daten stimmen gut mit den theoretisch für das Diphenylecyanatpentamethylendiamin

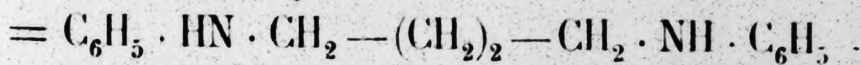


Berechnet für C₁₉H₂₄N₄O₂: C = 67,60%; H = 7,06%; N = 16,47%
verlangten überein. In der Tat ergab der Versuch mit synthetischem Cadaverin die Identität der beiden Phenylecyanate. (siehe die folgende Mitteilung).

B. Arginin.

Die zweitägige Harnmenge nach analoger Verabfolgung von 4,40 g Argininkarbonat betrug 2870 ccm, die Quantität des Cystins 0,606 g.

Die analoge Behandlung mit Phosphorwolframsäure und Verarbeitung der Fällung lieferte auch hier eine alkalisch reagierende, optisch inaktive Flüssigkeit. Aus einer Probe derselben konnte durch Silbersulfat und Baryt keine Argininverbindung erhalten werden. Deshalb wurde die Hauptmenge samt der vom Silber und Baryt wieder befreiten Probe in der beim Lysin angegebenen Weise mit NaOH und Phenylisocyanat behandelt. Die Prozedur verlief unter ganz ähnlichen Erscheinungen. Bei alkalischer Reaktion schied sich wieder ein reichlicher Niederschlag aus, während nachheriger Zusatz von HCl nur eine minimale gallertige Fällung hervorrief. Durch Umlösen aus Pyridinalkohol wurden 1,833 g Diphenylecyanattetramethylendiamin vom Schmelzpunkt 238—240° erhalten, dessen Zusammensetzung sich



durch die Analyse ergab. Die Natur dieses Harnstoffes wurde wiederum durch Vergleich mit dem entsprechenden Produkt aus synthetischem Putrescin sicher gestellt (siehe die folgende Mitteilung).

0,1023 g Substanz ergaben 0,2480 g CO₂ und 0,0620 g H₂O.
0,0972 „ „ „ 15,0 ccm N bei 17° und 756 mm.
C₁₈H₂₂N₄O₂ berechnet: C = 66,25%; H = 6,74%; N = 17,17%
gefunden: C = 66,11%; H = 6,73%; N = 17,28%

Schon früher (S. 341 und 348) ist angegeben, daß der Harn unseres Cystinurikers keine Diamine enthielt. Das Auftreten von Tetramethyldiamin nach Arginindarreichung und von Pentamethyldiamin nach Lysinverabfolgung schließt schon jede andere Annahme als die einer Entstehung aus den entsprechenden Diaminosäuren aus. Trotzdem haben wir mit der Phenylcyanatmethode, die schärfer als die alten Verfahren zur Prüfung auf Diamine ist, in der angegebenen Weise gewöhnlichen Cystinharn geprüft, aber auch so mit negativem Resultat.