

Ausscheidung von Tyrosin und Leucin in einem Falle von Cystinurie.

Von

Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin und der Medizinischen Klinik in Göttingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Juli 1905.)

Der Cystinurie liegt höchst wahrscheinlich eine Störung des bis jetzt so wenig erforschten und gekannten intermediären Eiweißstoffwechsels zugrunde. Auffallend ist, daß sich diese einzig allein auf das Cystin erstreckt, während, soviel bis jetzt bekannt ist, die übrigen Bausteine des Eiweißmoleküls auch vom Cystinuriker in normaler Weise verwandt resp. abgebaut werden; denn bisher sind unseres Wissens bei der Cystinurie außer den unkonstant auftretenden Diaminen, deren Bildungsstätte noch zweifelhaft ist, keine anderen Aminosäuren beobachtet worden. Es kann dies wohl daran liegen, daß bisher eine eingehende Untersuchung auf solche im Cystinharn nicht erfolgt ist. Wir kommen zu dieser Vermutung, weil es uns geglückt ist, im Harne eines an Cystinurie leidenden Patienten mit Leichtigkeit Tyrosin und Leucin sicher nachzuweisen, und wir nach dem Verhalten der isolierten Produkte wohl schließen dürfen, daß noch andere Aminosäuren in kleinen Mengen zugegen waren. Daß Tyrosin neben Cystin im Harne vorkommt, beweist ferner der Befund dieser beiden Aminosäuren in einem Cystinstein.¹⁾ Mit der Auffindung weiterer Eiweißspaltprodukte im Urin des Cystinurikers klärt sich die ganze Auffassung der Cystinurie. Wir haben keine vereinzelte, auf einen einzigen Komplex beschränkte Anomalie des Eiweißstoffwechsels vor uns,

¹⁾ Emil Fischer und Suzuki, Zur Kenntnis des Cystins. Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 405, 1905.

sondern vielmehr eine mehr allgemeine Störung des Eiweißabbaus. Es bleibt abzuwarten, ob auch bei anderen Fällen von Cystinurie außer Cystin andere Aminosäuren auftreten. Wir hoffen weitere Fälle von Cystinurie nach dieser Richtung hin untersuchen zu können.

Der untersuchte Harn stammt von einem 34 Jahre alten Manne aus gesunder Familie. Er selbst erkrankte mit dem 16. Jahre an Blasensteinen, die operativ entfernt wurden (drei Steine von Kirschengröße). Einige Jahre später wurde ein leichter Blasenkatarrh konstatiert, welcher jetzt noch vorhanden ist. Ab und zu gehen kleine Steinchen mit dem Urin ab.

Der Urin ist hellgelb, ziemlich klar. Beim Stehen scheidet sich ein Sediment ab, das aus den typischen sechseckigen Tafeln des Cystins besteht, daneben finden sich vereinzelt Blasenepithelien, Harnsäurekristalle und oxalsaurer Kalk. Die Reaktion des Urins ist sauer, er enthält keinen Zucker, dagegen hin und wieder Spuren von Eiweiß. Die Tagesmengen schwanken zwischen 2000 und 2500 ccm. Das spezifische Gewicht beträgt 1012—1015. Dieser Befund ist stets ziemlich konstant, nur schwanken die Cystinmengen. So wurden z. B. in einer Tagesportion von 2100 ccm bei einem Gesamt-N von 16,6 g 0,31 g Cystin und 0,5 g Harnsäure isoliert. Das Filtrat des im Vacuum zur Abscheidung des Cystins mit Eisessig stark eingeeengten Harns gab starke Reaktion mit Millons Reagens. Diese gab übrigens auch der Harn direkt. In einer anderen Tagesmenge von 2500 ccm und einem Gesamt-N von 12,0 g wurden 0,4 g Cystin erhalten. Auch dieser Urin gab sehr starke Rotfärbung mit Millons Reagens. Auch das Sediment des Urins gab die Reaktion, wenn auch in schwächerem Maße.

Zur Isolierung des Tyrosins wurden mehrere Tagesportionen des Harns unter vermindertem Druck bei 40° solange eingeeengt, bis eine Probe nach einigem Stehen unter Kühlung einen beträchtlichen Niederschlag gab, der mit Millons Reagens nur wenig reagierte und hauptsächlich aus Cystin bestand. Nachdem das Ausgeschiedene abgesaugt war, wurde das Filtrat weiter eingeeengt, bis wiederum beim Stehen in der Kälte Kristallisation erfolgte. Diese gab starke Rotfärbung mit Millons

Reagens und bestand zum größten Teil aus Tyrosin. Beide Kristallisationen wurden zur Reinigung in wenig 10%igem Ammoniak heiß gelöst und dann stark gekühlt. Es schieden sich hierbei aus der zweiten Portion Kristalle ab, die abgesaugt wurden. Zum Filtrat resp. bei der ersten Portion zur ammoniakalischen Lösung wurde nun vorsichtig soviel Eisessig tropfenweise zugefügt, daß die Reaktion eben noch alkalisch blieb.¹⁾ Es entstand besonders in der zweiten Portion sehr bald eine kristallinische Fällung, die sofort abgesaugt wurde. Dieser Niederschlag erwies sich als schon recht reines Tyrosin, das nach zweimaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser die richtigen Analysenzahlen gab:

0,1809 g Substanz gaben 0,3968 g CO ₂ und 0,1011 g H ₂ O	
Berechnet für C ₉ H ₁₁ NO ₃ :	Gefunden:
59,66% C und 6,07% H.	59,82% C und 6,21% H.

Die schwach alkalischen, von Tyrosin befreiten Filtrate wurden vereinigt und nun mit Eisessig stark übersättigt. Die Lösung blieb längere Zeit völlig klar und trübte sich dann rasch unter Abscheidung eines sandigen Niederschlages. Er gab noch eine ganz schwache, eben wahrnehmbare Rotfärbung mit Millons Reagens. Zur Reinigung wurde das Cystin noch zweimal in 10%igem Ammoniak gelöst und gefällt.

0,1715 g Substanz gaben 0,1869 g CO ₂ und 0,0750 g H ₂ O	
Berechnet für C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₂ O ₄ :	Gefunden:
C 30,00% und H 5,00%.	29,72% C und 4,80% H.

Der in der Hauptsache von Cystin und Tyrosin befreite Urin, der allerdings noch recht deutliche Millonsche Reaktion zeigte, aber auch beim sehr starken Einengen keine Tyrosinkristalle mehr gab, wurde nun mit normaler Natronlauge schwach alkalisch gemacht und mit der ätherischen Lösung von 5 g β -Naphthalinsulfochlorid geschüttelt. Jede halbe Stunde wurde die Reaktion geprüft und stets schwach alkalisch gehalten.²⁾

¹⁾ Vergl. E. Friedmann, Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Beziehungen der schwefelhaltigen Eiweißabkömmlinge, Hofmeisters Beiträge, Bd. III, S. 15, 1902.

²⁾ Stark alkalische Reaktion ist zu vermeiden, es kann das in größeren Mengen entstehende β -Naphthalinsulfoamid leicht zu unangenehmen Täuschungen Anlaß geben.

Der Äther wurde nach 4stündigem Schütteln abgetrennt, die alkalische Lösung filtriert und nun mit fünffach normaler Salzsäure angesäuert. Es fiel ein zunächst öliges, auf Eis jedoch bald erstarrender Niederschlag. Er wurde wieder in normaler Natronlauge gelöst und nochmals gefällt. Das erhaltene Produkt machte nicht den Eindruck einer einheitlichen Substanz. Es wurde im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, dann fein zerrieben und mit Äther ausgelaugt. Der größte Teil der Substanz ging in Lösung. Beim Abdunsten des Äthers hinterblieb ein öliges Rückstand, der allmählich erstarrte. Aus 20%igem Alkohol wiederholt umkristallisiert, wurden schließlich dünne, langgestreckte prismatische Kristalle erhalten, die bei 62° (korr.) anfangen zu sintern und bei 70° (korr.) völlig schmolzen. Zur Analyse wurde die Substanz bei 85° getrocknet.

0,1910 g Substanz gaben 0,4146 g CO₂ und 0,0977 g H₂O

Gefunden:	Berechnet für C ₁₆ H ₁₉ O ₄ NS:
59,2% C und 5,6% H.	59,81% C und 5,92% H.

Es lag somit Leucin¹⁾ vor.

Bei Wiederholung des Versuches wurde dasselbe Resultat erhalten.

0,1881 g Substanz gaben 0,4143 g CO₂ und 0,0953 g H₂O

Gefunden: 60,06% C und 5,63% H.

Der in Äther unlösliche Teil konnte trotz aller Sorgfalt nicht in einheitlich kristallisierende Fraktionen getrennt werden.

Ob neben dem Tyrosin noch Substanzen vorhanden waren, welche mit dem Millonschen Reagens reagierten, können wir nicht entscheiden. Jedenfalls blieb auch im Filtrat der Tyrosinausscheidung, aus dem kein Tyrosin mehr isoliert werden konnte, die Millonsche Probe positiv, nachdem der verdünnte Harn mit Salzsäure stark angesäuert, gekocht und mit Äther ausgeschüttelt worden war.

Tyrosin scheint nach den Beobachtungen des einen von uns²⁾ nicht so selten im Urin aufzutreten. Wir hatten Gelegen-

¹⁾ Emil Fischer und Peter Bergell, Über die β -Naphthalinsulfoderivate der Aminosäuren. Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft, Jg. XXXV, S. 3783, 1902.

²⁾ Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 50, 1905.

heit, drei weitere Urinproben zu untersuchen, die alle drei ausgesprochene Millonsche Reaktion gaben. Die eine Portion stammte von einer an schwerem Icterus leidenden älteren Frau, bei der offenbar totaler Verschuß des Ductus choledochus vorlag. Der zweite Urin, der ebenfalls sehr intensive Millonsche Probe gab, rührte von einem Patienten her, der eine schwere Narkose durchgemacht hatte (verbraucht ca. 30 g Chloroform und 200 g Äther). Endlich wurde noch der Harn eines jugendlichen Diabetikers untersucht. Während in den beiden ersten Fällen Tyrosin isoliert werden konnte, gelang dies in letzterem Falle nicht. Nach dem Ausfall der β -Naphtalinsulfureaktion in diesen Fällen könnte man zur Vermutung kommen, daß das Tyrosin allein oder doch hauptsächlich zur Ausscheidung gelangt sei, während die übrigen Aminosäuren normalerweise verbrannt worden wären. Dieser Befund wirft vielleicht auch einiges Licht auf das Wesen der Alkaptonurie, bei der ja auch im wesentlichen das Tyrosin (neben Phenylalanin) beteiligt zu sein scheint. Weitere Untersuchungen und weitere Beobachtungen auf diesem Gebiete werden gewiß berufen sein, uns einen Einblick in den Stoffwechsel des Eiweißes jenseits des Darmes zu geben.