

Über den Gehalt des normalen Menschenharns an Aminosäuren.

Von

Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. März 1906.)

Bis vor kurzem galt das Auftreten von freien Aminosäuren im Harn als ein Zeichen einer Störung im normalen Ablauf des intermediären Eiweißstoffwechsels. In diesem Sinne sind die Befunde der einfachen Eiweißspaltprodukte im Urin auch gedeutet worden. Vor allem ließen sich solche nachweisen, wenn aus irgend einem Grunde das Oxydationsvermögen des Organismus schwer gestört war. So wurde z. B. Tyrosin beim Coma diabeticum beobachtet,¹⁾ während in der anfallsfreien Zeit keine Aminosäuren im Urin nachweisbar waren. Andererseits fanden wir Tyrosin nach einer schweren Narkose.²⁾ Ferner gelang uns der Nachweis, daß bei der Cystinurie die Anomalie im Eiweißabbau nicht auf die eine Aminosäure, das Cystin, beschränkt zu sein braucht, denn in unserem Falle vermochten wir außerdem noch Tyrosin und Leucin zu gewinnen. Wir wollen noch erwähnen, daß der Befund von Glykokoll im Urin von Gichtkranken³⁾ vielleicht nicht mit einer Störung des Eiweißstoffwechsels zusammenhängt, sondern als eine solche des Harnsäurestoffwechsels aufzufassen ist.

¹⁾ Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 40, 1905.

²⁾ Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm, Ausscheidung von Tyrosin und Leucin in einem Falle von Cystinurie. Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 468, 1905.

³⁾ A. Ignatowski, Über das Vorkommen von Aminosäuren im Harn, vorzugsweise bei Gicht. Ebenda, Bd. XLII, S. 388, 1904. — Vgl. auch A. Lipstein, Die Ausscheidung der Aminosäuren bei Gicht und Leukämie. Hofmeister's Beiträge, Bd. VII, S. 527, 1905, und Gunnar Forssner, Über das Vorkommen von freien Aminosäuren im Harn und deren Nachweis. Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 15, 1906.

Bei all den im hiesigen Institute ausgeführten Untersuchungen hielten wir uns bei der Isolierung von Aminosäuren genau an die von Emil Fischer und Peter Bergell¹⁾ gegebene Vorschrift, d. h. wir schüttelten den zunächst neutralisierten Harn mit einer ätherischen Lösung von β -Naphtalinsulfochlorid unter Zugabe von soviel Natronlauge, daß die Reaktion dauernd schwach alkalisch blieb. Die Dauer des Schüttelns betrug 3—6 Stunden. Nach jeder halben Stunde wurde die Reaktion des Gemisches kontrolliert. Unter diesen Verhältnissen erhielten wir nach sehr zahlreichen Versuchen aus normalem Menschenharn keine β -Naphtalinsulfoderivate. Der Harn blieb nach Zusatz von Salzsäure meistens klar. Ab und zu ließ sich allerdings eine Trübung nachweisen. Eine richtige Fällung beobachteten wir nur ausnahmsweise. Wir haben uns bemüht, das entstandene Produkt zu fassen, und es ist uns auch gelungen, aus 10 l normalem Urin schließlich 0,212 g eines einheitlichen Produktes zu gewinnen, dessen Zusammensetzung und Schmelzpunkt (159° korr.) beweist, daß β -Naphtalinsulfoglycin vorlag.

0,1211 g Substanz gaben 0,2422 g CO_2 und 0,0471 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{NS}$:

54,34 % C und 4,15 % H.

Gefunden:

54,54 % C und 4,32 % H.

Wir betonen, daß dieser Befund ein keineswegs regelmäßiger war, denn sehr oft war die vorhandene Fällung eine so geringe, daß es ganz unmöglich war, sie zu identifizieren.²⁾ Immerhin dürfen wir nach unseren Beobachtungen den Schluß ziehen, daß auch unter normalen Umständen in geringer Menge Aminosäuren in freiem Zustande im Urin auftreten können. Wir fügen jedoch sofort hinzu, daß auffallenderweise stets nur Glykokoll isoliert werden konnte. Nun spielt ja das Glykokoll im tierischen Organismus eine eigenartige Rolle, die es, wenn wir von der Schwefelsäure, die ja als ein sekundäres

¹⁾ Emil Fischer und Peter Bergell, Über β -Naphtalinsulfoderivate der Aminosäuren. Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Bd. XXXV, S. 3779, 1902.

²⁾ Emil Abderhalden und Peter Rona, Über die Verwertung der Abbauprodukte des Caseins im tierischen Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 205, 1905.

Abbauprodukt der Proteine zu betrachten ist, absehen, scharf von den übrigen Bausteinen des Eiweißes unterscheidet. Es dient, wie ja seit der Kuppelung der in dem Organismus eingeführten Benzoesäure zu Hippursäure bekannt ist, zur Bindung mannigfacher organischer Stoffe, sei es, daß dieselben künstlich dem Organismus zugeführt werden, sei es, daß sie bei der Darmfäulnis oder auch im Zellprozeß entstehen. Der tierische Organismus verfügt stets über bestimmte Glykokollvorräte, und es ist nach dieser Richtung nicht ohne Interesse, daß durch die bekannten Versuche von Bunge und Schmiedeberg¹⁾ festgestellt ist, daß die Niere vom Hunde Glykokoll zur Bindung von Benzoesäure besitzt, wenn auch in beschränktem Maß. Es ist nun wohl denkbar, daß das in den Harn übertretende Glykokoll als solches zu betrachten ist, das zur Kuppelung keine Verwendung gefunden hat. Wir wollen nicht verschweigen, daß, wie schon betont, auch die Möglichkeit vorliegt, daß wir das Glykokoll auf den Abbau der Harnsäure zurückzuführen haben. Jedenfalls erscheint es uns von größter Bedeutung, daß mit voller Schärfe hervorgehoben wird, daß aus dem Vorkommen von Glykokoll im Harn nicht ohne weiteres auf einen normalen Befund von Aminosäuren im allgemeinen im Urin geschlossen werden darf. Das Glykokoll nimmt einesteils eine Sonderstellung ein und anderenteils kann es aus verschiedener Quelle stammen.

Daß im allgemeinen das Auftreten von Aminosäuren im Harn als Störung im Eiweißstoffwechsel aufzufassen ist, geht einmal daraus hervor, daß solche nur dann nachweisbar waren, wenn Grund zur Annahme einer solchen vorlag. Wir wollen gleich hier bemerken, daß wir diejenigen Mitteilungen ganz unberücksichtigt lassen, welche von einem Vorkommen von Aminosäuren im Harn auf Grund von isolierten Rohprodukten sprechen, ohne jedoch wenigstens durch die Analyse den Nachweis erbracht zu haben, daß wirklich Eiweißabbauprodukte vorliegen. Wir haben uns selbstverständlich überzeugt, daß dem Urin zugesetzte Aminosäuren unter den von uns im hiesigen Institute angewandten Bedingungen nachweisbar sind. Sehr erleichtert

¹⁾ G. v. Bunge und O. Schmiedeberg, Über die Bildung der Hippursäure. Archiv f. experim. Path. u. Pharmak., Bd. VI, S. 233, 1876.

wird die Auffindung der β -Naphtalinsulfoderivate durch ihre Aufnahme in Äther, nachdem sie mit Säure gefällt sind. Wird die ätherische Lösung mit Wasser so lange gewaschen, bis letztere möglichst entfernt ist, und nun mit Natriumsulfat scharf getrocknet, so erhält man ein schon recht reines Produkt, das jedoch in fast allen Fällen β -Naphtalinsulfoamid einschloß.

Nun haben in neuerer Zeit Gustav Embden und Heinrich Reese¹⁾ die interessante Beobachtung gemacht, daß in allen Fällen Glykokoll als β -Naphtalinsulfoverbindung aus Harn zu erhalten ist, wenn dieser mit viel Alkali geschüttelt wird. Wir wollen gleich hier bemerken, daß wir den Befund der genannten Autoren insofern bestätigen können, als auch wir in Fällen, in denen nach unseren Bedingungen kein β -Naphtalinsulfoderivat erhältlich war, Glykokoll nachweisen konnten, wenn wir uns an die von Embden und Reese angewandten Versuchsbedingungen hielten, d. h. einen Überschuß von Alkali wählten. Andere Aminosäuren als Glykokoll konnten wir mit Sicherheit nicht nachweisen. Die Mengen der aus 1000 ccm Harn isolierten β -Naphtalinsulfoverbindungen schwanken von 0,05 g bis 0,33 g. Diese Zahlen beziehen sich auf das analysenreine Produkt. Wir betonen dies deshalb, weil Embden und Reese die Rohprodukte gewogen haben, von denen wir ebenfalls oft recht beträchtliche Mengen erhielten.

Sie stellten meistens einen bräunlich gefärbten Sirup dar. Wir verzichteten auf ihre Wägung, weil sie nach unseren Erfahrungen sehr unrein und schwer völlig zu trocknen waren. Oft gelang es durch Lösen der Substanz in heißem Wasser, unter Zusatz von ein paar Tropfen Ammoniak, direkt reines β -Naphtalinsulfoglycin zu gewinnen. Meistens wählten wir den von dem einen von uns in Gemeinschaft mit Peter Bergell²⁾ beschriebenen Weg über das Baryumsalz.

¹⁾ Gustav Embden und Heinrich Reese, Über die Gewinnung von Aminosäuren aus normalem Harn. Hofmeister's Beiträge, Bd. VII, S. 411, 1905.

²⁾ Emil Abderhalden und Peter Bergell, Über das Auftreten von Monoaminosäuren im Harn von Kaninchen nach Phosphorvergiftung. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 464, 1903.

Die Mengen der isolierten Produkte betragen in sechs gut durchgeführten Versuchen, auf 1000 ccm Harn berechnet: 1. 0,0525 g; 2. 0,0592 g; 3. 0,1256 g; 4. 0,2046 g; 5. 0,2861 g; 6. 0,3257 g. Daß β -Naphthalinsulfoglycin vorlag, ergab in den letzten drei Fällen die Analyse, in den übrigen begnügten wir uns mit der Feststellung des Schmelzpunktes und dem Aussehen der Krystalle. Es ließ sich durch Beimengen von reinem β -Naphthalinsulfoglycin der Schmelzpunkt 159° (korr.) nicht herabdrücken. In allen Fällen wurde auf Stickstoff geprüft.

0,1242 g Substanz gaben	0,2462 g CO_2	und	0,0500 g H_2O .
0,1685 » » »	0,3345 » » »		0,0650 » »
0,1855 » » »	0,3702 » » »		0,0715 » »
Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{NS}$:		Gefunden:	
54,34 % C und 4,15 % H.		54,06 % C und 4,47 % H.	
		54,14 % » » 4,28 % »	
		54,42 % » » 4,28 % »	

Ohne Zweifel sind die angeführten Mengen von β -Naphthalinsulfoglycin zu klein, denn Verluste ließen sich bei der Gewinnung des reinen Produktes nicht vermeiden. Wir wollen nicht verschweigen, daß es uns mehrere Male trotz ziemlich reichlicher Mengen des Rohproduktes nicht gelungen ist, ein analysenreines Präparat zu erhalten. In einzelnen Fällen deutete die Analyse auf das Vorhandensein von β -Naphthalinsulfocystein hin. Wir halten jedoch nach unseren Erfahrungen den Beweis nicht für erbracht, daß eine andere Aminosäure als Glykokoll vorlag. Wir betonen dies umsomehr, weil in neuester Zeit Mohr¹⁾ in dem Ausfall einer Stickstoffanalyse den Wahrscheinlichkeitsbeweis erblickte, daß ein peptidartiges Gebilde und zwar ein Leucinderivat vorgelegen haben könnte. Selbstverständlich darf man, will man auf dem Boden der Tatsachen bleiben, derartige Vermutungen nicht in die Literatur einführen, denn Mohr's Befund vermag nicht einmal zu beweisen, daß überhaupt ein Aminosäurederivat vorlag. Wir vermissen selbst den Nachweis des Leucins. Es ist sehr zu wünschen, daß derartige Resultate erst dann zur Mitteilung kommen, wenn der Beweis,

¹⁾ Mohr, Über die Ausscheidung von Aminosäuren im diabetischen Harn. Zeitschrift für experimentelle Path. u. Therapie, Bd. II, S. 665, 1905.

daß ein bestimmtes Produkt vorliegt, mit allen erforderlichen Mitteln geführt ist.

Für uns hatte der Befund von Embden und Reese nach verschiedener Richtung Interesse. Einmal fragte es sich, ob außer dem Glykokoll andere Aminosäuren im Harn sich finden. Es gelang uns nicht, diese Frage definitiv zur Entscheidung zu bringen. Es scheint, daß jedenfalls größere Mengen anderer Eiweißspaltprodukte im Urin unter normalen Verhältnissen nicht auftreten. Bevor wir diese Untersuchungen abgeschlossen und diesen Befund erhoben hatten, schien es uns nicht unmöglich, daß die von Embden und Reese gemachte Beobachtung, daß Urin beim tagelangen Schütteln mit viel Alkali und β -Naphtalinsulfochlorid Derivate liefert, mit dem von dem einen von uns in Gemeinschaft mit Pregl¹⁾ nachgewiesenen komplizierteren Eiweißabbauprodukte zusammenhängen könnte. Dieses enthielt ziemlich viel Glykokoll, und es war wohl denkbar, daß das Alkali eine Hydrolyse dieses Produktes bewirken konnte. Allerdings müßte man erwarten, daß dann auch die übrigen nachgewiesenen Aminosäuren vorhanden wären. Nun ist die genannte eiweißähnliche Verbindung offenbar als ein dem vollständigen Abbau entgangenes Produkt aufzufassen und braucht einmal nicht beständig im Harn vorhanden zu sein und vor allem ist es nicht ausgeschlossen, daß es eine wechselnde Zusammensetzung zeigt. Um zu entscheiden, ob das Glykokoll, das sicher nicht in freiem Zustande im Urin vorhanden ist, sondern erst unter der Alkaliwirkung frei wird, in einer komplizierten Verbindung vorhanden ist, fällten wir Harn, der mit Bleiacetat entfärbt und dem die Hippursäure mit Essigäther möglichst entzogen war, mit Phosphorwolframsäure (5%ige Lösung) und untersuchten den Niederschlag und das Filtrat für sich mit β -Naphtalinsulfochlorid und viel Alkali. Es ergab sich, daß das Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung fast alles Glykokoll enthielt. Der Niederschlag enthielt nur Spuren. Somit war entschieden, daß das Glykokoll einer Verbindung angehört, die nicht

¹⁾ Emil Abderhalden und Fritz Pregl, Über einen im normalen menschlichen Harn vorkommenden schwer dialysierbaren Eiweißabkömmling. Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 19, 1905.

durch Phosphorwolframsäure fällbar ist. Wir erwähnen noch, daß wir das lang dauernde Schütteln mit Alkali in einem Teil der Versuche dadurch umgingen, daß wir den Harn mit derselben Alkalimenge kochten, und zwar 1—2 Stunden. Ein Einfluß auf die Ausbeuten war nicht bemerkbar.

Es ist möglich, daß durch das starke Alkali ein Glykokollpaarling zerlegt wird. Hippursäure wird unter den gewählten Bedingungen nicht oder doch nur wenig angegriffen. Sie kommt als Quelle des Glykokolls nicht in Betracht. Wir können vorläufig nicht entscheiden, von welcher Bindung das Glykokoll losgelöst wird, nur soviel darf als sicher angenommen werden, daß unter normalen Verhältnissen, Aminosäuren in irgendwie in Betracht kommenden Mengen in freier Form im Harn nicht enthalten sind. Es wäre wünschenswert, festzustellen, ob die Eiweißaufnahme irgend einen Einfluß auf den Gehalt des Harns an gebundenem und freiem Glykokoll hat, oder ob ein Zusammenhang mit dem Purinstoffwechsel existiert.