

Г. Г. ЯУРЕ

**СПОСОБ БЫСТРОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
УРОХРОМА В МОЧЕ**

*(Представлено академиком П. П. Лазаревым 25 III 1940)*

Пигменты мочи как нормальные, так и патологические, могут служить мериллом совершающихся в организме обменных процессов. Нормальные пигменты мочи, как урохром, являются конечным продуктом превращений белков, имеющих в своем составе пигментную группу. Такой конечный продукт выбрасывается организмом как не подлежащий использованию. Однако же его количество может служить косвенным указателем величины или интенсивности превращений пигментоформных белков, т. е. главнейше гемоглобина. Впрочем, Dombrowski<sup>(1)</sup> считает, что урохром происходит не из пигментов желчи и крови, а из белка.

Изучение вопроса о значении урохрома тем более интересно, что этот пигмент относится к числу объектов научного исследования, оставшихся в тени. Между тем само количество урохрома может значительно варьировать в зависимости от патологических состояний. Например, моча диабетиков, обычно весьма слабо окрашенная, повидимому, отличается малым содержанием урохрома. Весьма возможно, что малое содержание урохрома зависит не только от большого его разведения в громадных количествах мочи, выводимой за сутки, но что и действительное суточное его количество уменьшено вследствие качественного изменения обменных процессов в организме.

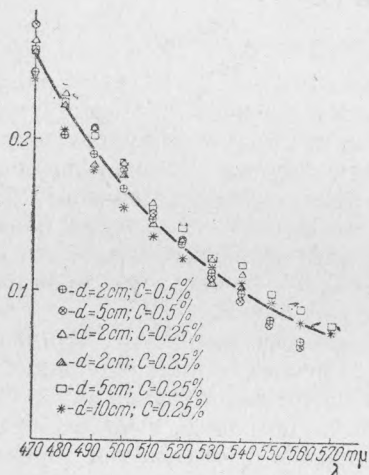
Исходя из этих соображений, по предложению академика П. П. Лазарева, я приступил к изучению способа количественного определения урохрома. Основной задачей явилось выработать метод быстрого, при достаточной точности, количественного определения. Совершенно ясно, что если пытаться изучать частности белкового обмена по выбрасываемым пигментам, то это можно сделать только в том случае, если в руках исследователя имеется метод быстрых определений, позволяющий изучать процесс в его течении от дня ко дню или даже по частям суток. Если же само определение будет требовать много времени, например, нескольких дней, то им нельзя воспользоваться для каких-либо выводов. Это будут отдельные, мало связанные между собой наблюдения.

Способ чисто химического определения по Garrod<sup>(2)</sup>, каковой Hammarsten<sup>(3)</sup> характеризует как очень мешкотный, относится к числу таких малопригодных методов. Он требует дней для отдельного весового определения, а потому и был отвергнут нами. Также и колориметрический метод, предложенный Klemperer<sup>(4)</sup>, вызывает большие сомнения с количественной стороны.

Нами был избран спектрофотометрический способ определения концентрации пигмента, а по этой концентрации—определения количества пигмента, выделенного за данный срок. При этом мы должны были выработать метод, при котором быстро изолированный пигмент мог бы находиться при постоянных условиях во время спектрофотометрического определения и не обнаруживал бы изменений поглощения света в определенном растворе, как то замечается в цельной моче.

Для самой возможности спектрофотометрического измерения концентрации пигмента необходимо было наперед определить коэффициент поглощения раствора урохрома (у нас алкогольного) для разных длин волн. В литературе я таковых величин не нашел. В *Tabulae Biologicae* таких определений также не значится.

С этой целью мною был выделен [по методу Garrod в модификации, описанной Spaeth (5)] урохром из мочи человека. Навеска полученного урохрома была растворена в этиловом алкоголе. Растворы взяты в двух концентрациях—в  $\frac{1}{2}\%$ - и  $\frac{1}{4}\%$ -ной. С этими растворами при различной толщине слоя (2 см, 5 см и 10 см) были произведены измерения и получены кривые поглощения.



Нанесенные точки (см. фигуру) позволили провести плавную кривую среднего значения коэффициента поглощения при разных длинах волн. Эти средние значения представлены ниже. Вычисленные из опытов они хорошо совпадают с кривой на графике.

$\epsilon_{470}=0,256$	$\epsilon_{530}=0,116$
$\epsilon_{480}=0,224$	$\epsilon_{540}=0,108$
$\epsilon_{490}=0,197$	$\epsilon_{550}=0,089$
$\epsilon_{500}=0,175$	$\epsilon_{560}=0,079$
$\epsilon_{510}=0,152$	$\epsilon_{570}=0,070$
$\epsilon_{520}=0,133$	

Добытыми величинами нам была дана возможность спектрофотометрически определять концентрацию урохрома в любой порции мочи. Оставалось только выработать методику для всего опыта в целом.

Методика исследования мочи на содержание в ней урохрома должна состоять в следующем. Собирается моча за сутки (более частые определения вряд ли нужны, ведь в отдельных порциях среди дня могут быть значительные колебания в содержании пигмента в зависимости от питья и потоотделения). Измеряется количество собранной мочи. Из нее отмеряется порция в 400 см<sup>3</sup>. В эту порцию вносится сернокислый аммоний до полного насыщения при комнатной температуре. Насыщенная сернокислым аммонием моча переливается в делительную воронку. К моче приливается 30 см<sup>3</sup> крепкого алкоголя (96%). Затем производится многократное встряхивание. При этом весь урохром переходит в алкоголь. Дав хорошо отстояться, выливают через кран воронки мочу с хлопьевидным осадком сернокислого аммония, и в воронке остается только алкогольный раствор урохрома. Конечно, пигмент в этом случае химически весьма загрязненный, но это почти или совсем не влияет на определение. Этот раствор фильтруется и наливается в плоскопараллельную кюветту спектрофотометра (раствор). В другую кюветту наливается 96%-ный алкоголь (растворитель). Толщину слоя удобнее для измерений брать в 2 см. Затем производится определение при трех длинах волн, например 470 мμ, 500 мμ

и 530 мμ или 480 мμ, 500 мμ, 520 мμ. Из полученных результатов измерения и коэффициента поглощения (берем его из приведенной выше таблицы) концентрация определяется по формуле:

$$C_{\lambda} = \frac{\log \operatorname{tg} \varphi_1 - \log \operatorname{tg} \varphi_2}{d \varepsilon_{\lambda}},$$

где  $C$  — концентрация в процентах,  $\varphi_1$  — угол поворота анализатора, когда раствор помещен в спектрофотометре слева (растворитель справа),  $\varphi_2$  — угол поворота анализатора, когда раствор справа (растворитель слева),  $d$  — толщина слоя раствора,  $\varepsilon$  — коэффициент поглощения,  $\lambda$  — длина волны.

Полученные при измерениях в лучах трех длин волн три величины концентрации приводятся к средней концентрации  $\bar{C}$ . Определение общего количества отсюда крайне просто. По средней концентрации в процентах подсчитывается количество урохрома в 30 см<sup>3</sup> взятого алкоголя, т. е.  $\frac{\bar{C} \cdot 30}{100}$  г. Это количество содержалось в 400 см<sup>3</sup> мочи. Отсюда простым перемножением определяется все количество урохрома, имеющееся в моче, собранной за сутки. Все определение вместе с вычислением занимает около 2 час.

Так как в руководствах и справочниках нет указаний на величину выведения пигмента мочой за сутки, то мы продолжили работу в этом направлении. Приступая к этим определениям, мы предполагали, что нормальный пигмент урочром выводится организмом за сутки при условии ненарушенного обмена в постоянном количестве. Исследование проведено над здоровым человеком при разнообразной диете и образе жизни как заполненным работой, так и при полном отдыхе. В следующей таблице представлены результаты пяти определений.

Дата	Количество мочи в мг	В % алког. раствора	В % в моче	Количество урочрома в г	Примечание
9 XI	1800	1,66	0,50	9,0	
13 XI	1150	2,78	0,83	9,5	
25 XI	1550	1,80	0,54	8,4	
1 XII	1050	2,93	0,88	9,2	
7 XII	920	3,08	0,92	8,5	прием пирамидона 0,3×2

Таким образом, исследования дали величину выводимого за сутки урочрома 8,4—9,5 г. Количество, как видим, довольно большое. Оно составляет от  $\frac{1}{4}$  до  $\frac{1}{3}$  всего количества выводимой за сутки с мочой мочевины. Нет сомнения поэтому, что как в вопросах патологии, так и физиологии урочром может помочь выяснению и уточнению многого из того, что сейчас неясно и неточно.

Лаборатория биофизики  
Академии Наук СССР  
Москва

Поступило  
28 III 1940

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> D o m b r o v s k i, ZS. f. physiolog. Chemie, 54 (1907). <sup>2</sup> G a r r o d, Proc. of Roy. Soc. of London, 55 (1894). <sup>3</sup> O. H a m m a r s t e n, Lehrb. der physiolog. Chem. (1904). <sup>4</sup> K l e m p e r e r, Klein. Wochenschrift, 40. <sup>5</sup> E. S p a e t h, Die chemische und mikroskop. Untersuchungen des Harnes (1912).