

Ueber die Tyrosinhydantoinsäure.

Von

M. Jaffe.

(Der Redaktion zugegangen am 14. Februar 1883.)

Nach Kühne's berühmten Untersuchungen über die Einwirkung des Pancreasferments auf die Eiweissstoffe hat man fast allgemein angenommen, dass auch bei der physiologischen Verdauung innerhalb des Darmkanals ein Theil der Nahrungsalbuminate in Leucin, Tyrosin u. A. krystallinische Produkte zerfällt. Wenigstens wurden experimentell begründete Zweifel gegen diese Annahme nicht erhoben, bis vor Kurzem Schmidt-Mühlheim¹⁾ durch methodische Untersuchungen an Hunden, welche er mit reinem Fleisch fütterte, zu dem Resultate gelangte, dass unter physiologischen Verhältnissen das Nahrungseiweiss, sowohl im Darm wie im Magen grösstentheils als Pepton, zum Theil als gelöstes Eiweiss resorbirt werde, dass dagegen von der Umwandlung und Resorption irgend nennenswerther Mengen von Eiweiss in Form krystallinischer Körper nicht die Rede sei. Letztere Behauptung stützte sich vornehmlich darauf, dass krystallinische Amidosäuren im Darminhalt nicht oder doch nur in minimalen Spuren nachgewiesen werden konnten. Gegen die hieraus gezogene Schlussfolgerung lässt sich aber einwenden, dass Leucin und Tyrosin vielleicht durch schnelle Resorption aus dem Darmkanal sich der Beobachtung entzogen haben, dass ihr Fehlen im Darminhalt also nicht unbedingt gegen ihre Entstehung bei der Verdauung spricht.

¹⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie von His, Braune und Du Bois-Reymond 1879.

Ferner dürfen die für einen besonderen Ernährungsmodus gewonnenen Resultate Schmidt-Mühlheim's nicht verallgemeinert werden; sie gelten vorläufig nur für Hunde, welche nach 2-tägigem Hungern die verhältnissmässig geringe Menge von 200 gr. Fleisch als Nahrung erhielten; es ist sehr denkbar, dass bei anderen Thierspecies und beim Menschen, dass bei anderen Ernährungsverhältnissen, namentlich bei reichlicher Eiweisszufuhr ein grösserer Antheil in Amidosäuren zerfällt.

Immerhin bleibt es eine offene Frage, in welchem Umfange unter physiologischen Verhältnissen die Bildung von Amidosäuren im Darmkanal als Produkt der Verdauungsfermente stattfindet.

Noch weniger sind wir darüber unterrichtet, ob überhaupt und in welchen Mengen Leucin und Tyrosin ausserhalb des Darms in den inneren Organen als Zwischenstufen des Eiweisszerfalles auftreten.

Das seit vielen Jahren von den physiologischen Chemikern immer wieder aufgenommene Studium der Umwandlungen, welche die Amidosäuren im Organismus erfahren, ging von der Voraussetzung aus, dass diese Substanzen als normale Spaltungsprodukte der Albuminate eine wichtige Stelle im thierischen Stoffwechsel einnehmen. Während die Frage nach den Schicksalen des Leucins und Glycocolis längst in befriedigender Weise beantwortet ist, besitzen wir über das Verhalten des Tyrosins im Organismus trotz zahlreicher Bemühungen noch immer keine vollkommene Kenntniss.

Die ersten Tyrosinfütterungsversuche von Schultzen und Nencki, sowie die späteren von Küssner hatten zu keinem entscheidenden Resultate geführt.

Brieger ¹⁾ constatirte nach Aufnahme von 10—20 gr. Tyrosin pro Tag beim Menschen eine nicht unerhebliche Zunahme des Phenols (bis 0,1576 gr. pro die), sowie der gepaarten Schwefelsäuren des Harns. Die Menge der letzteren war erheblich grösser, als dem ausgeschiedenen Phenol entsprach. Der Harn musste somit noch andere H_2SO_4 bindende

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. II, S. 241.

Stoffe enthalten. Weder im Urin noch in den Fäces liess sich Tyrosin nachweisen, während Schultzen und Neicki, sowie Küssner etwas Tyrosin im Harn, erstere auch in den Excrementen gefunden hatten.

Die wichtigen Untersuchungen der letzten Jahre über die Entstehung aromatischer Oxysäuren bei der Fäulniss brachten für das Studium der Tyrosinfrage neue Anregungen. Nachdem E. und H. Salkowski¹⁾ aus faulender Hornsubstanz die p-Oxyphenyllessigsäure dargestellt und Baumann²⁾ gezeigt hatte, dass bei der Fäulniss reinen Tyrosins, Hydroparacumarsäure (Paraoxyphenylpropionsäure) entsteht, und dass die letztere bei weiterer Fäulniss successive in p-Oxyphenyllessigsäure, Parakresol und Phenol³⁾ übergeht, nachdem es Baumann ferner gelungen war⁴⁾, die genannten Oxysäuren im normalen Harn aufzufinden, schien die Richtung vorgezeichnet, in welcher die Untersuchung der Umwandlungsprodukte des Tyrosins im Thierkörper zunächst fortgesetzt werden musste.

Blendermann⁵⁾ der in dieser Richtung unter Baumann's Leitung arbeitete, fand nach Fütterung mit Tyrosin:

1. Die früheren Angaben Brieger's bestätigend eine Zunahme der Phenole im Harn bei Menschen und Kaninchen.
2. Eine Vermehrung der normalen Oxysäuren im Harn von Hunden und Kaninchen.

Dessgleichen hat Schrotten⁶⁾ nach Darreichung von Tyrosinschwefelsäure die Phenole und Oxysäuren in vermehrter Menge gefunden.

Die Zunahme dieser Produkte entspricht aber, wie es scheint, nur einem geringen Bruchtheil des in den Körper

¹⁾ Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 648 und 1438.

²⁾ Ibid., Bd. XII, S. 1150.

³⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IV, S. 304 ff.

⁴⁾ Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 279 und Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IV, S. 304 ff.

⁵⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VI, S. 234.

⁶⁾ Ibid., Bd. VII, S. 23.

eingeführten Tyrosins, vielleicht nur demjenigen Antheil, welcher im Darm der Fäulniss anheimfällt. Ueber die Schicksale des unverändert resorbirten Tyrosins gibt indess ein anderer Befund Blendermann's¹⁾ wichtigen Aufschluss. Es ist diesem Forscher gelungen, aus dem Harn eines Kaninchens eine Substanz zu isoliren, welche sich durch ihre Reaktionen und durch die Elementaranalyse als Tyrosinhydantoin herausstellte; daneben fand sich in geringer Menge eine Säure, welche der Oxymandelsäure homolog, wahrscheinlich als Oxyhydroparacumarsäure aufzufassen ist.

Das Tyrosinhydantoin scheint allerdings nicht constant nach Tyrosinfütterung aufzutreten, wenigstens fand es Blendermann in einem zweiten Versuche gar nicht, in einem dritten höchstens in zweifelhaften Spuren, obgleich das Kaninchen innerhalb acht Tagen etwa 24 gr. Tyrosin erhalten hatte.

Es ist hiernach das Verhalten des Tyrosins im Organismus noch nicht in völlig befriedigender Weise aufgeklärt und eine weitere Bearbeitung dieses Themas in hohem Grade wünschenswerth.

Vor mehreren Jahren habe ich mich ebenfalls mit Tyrosinfütterungsversuchen an Hunden beschäftigt, dieselben aber abgebrochen, als die oben erwähnten wichtiger und für die Erledigung der Tyrosinfrage so viel versprechenden Mittheilungen von Baumann erschienen.

Meine Versuche hatten zunächst nur das von Brieger gewonnene Resultat bestätigt, dass weder im Harn noch auch in den Excrementen (in letzteren wenigstens nicht in erheblicher Menge) unverändertes Tyrosin enthalten ist. Quantitäten von 5—10 gr. Tyrosin pro Tag wurden von Hunden vollständig resorbirt und umgewandelt.

Ich hatte bemerkt, dass im Urin reichlicher als in der Norm Substanzen auftraten, welche sich beim Erwärmen mit Millon's Reagens roth färbten; es war mir auch nicht entgangen, dass diese Substanzen zum Theil saurer Natur und durch Aether extrahirbar waren; jedoch wollte es mir nicht

¹⁾ Loc. cit.

gelingen, aus dem Aetherextrakte, wohl charakterisirte Produkte zu isoliren.

Weiterhin beabsichtigte ich zu untersuchen, ob vielleicht das Tyrosin durch Anlagerung von CONH im Organismus eine Uramidosäure bilde, wie dies für das Sarkosin von Schultzen zuerst behauptet und für das Taurin von Salkowski¹⁾ bewiesen worden war.

Eine Uramidosäure des Tyrosins ist bisher nicht bekannt gewesen. Ich habe deshalb, bevor ich sie im Harn nach Tyrosinfütterung aufsuchen konnte, ihre Darstellung auf synthetischem Wege versucht und bin in folgender Weise zum Ziele gelangt:

Tyrosin wird mit Wasser aufgeschwemmt und bis nahe zum Kochen erhitzt, alsdann cyansaures Kalium in kleinen Portionen in die heisse Flüssigkeit eingetragen, bis alles Tyrosin gelöst ist und die Lösung beim Ansäuern mit Essigsäure keine Fällung von unverändertem Tyrosin mehr gibt. Die Flüssigkeit, welche nunmehr stark alkalisch reagirt und gewöhnlich eine grünliche Färbung zeigt, wird mit Essigsäure neutralisirt, bis zum Syrup abgedampft und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Aus dem alkoholischen Filtrat scheidet sich beim Erkalten allmählich ein Theil der Tyrosincarbaminsäure als Kaliumsalz in Krystallwarzen aus, der grössere Theil wird durch Abdampfen der Lösung als syrupöser Rückstand gewonnen. Letzterer wird mit dem krystallinisch ausgeschiedenen Antheil vereinigt, in Wasser gelöst, mit Bleiessig gefällt, der Bleiniederschlag sorgfältig ausgewaschen, mit SH_2 zersetzt, die vom Schwefelblei abfiltrirte Lösung auf ein kleines Volumen abgedampft und zur Krystallisation hingestellt, welche in 24 Stunden beendet ist.

Die so dargestellte Substanz, welche sich durch ihr Verhalten als Tyrosinhydantoinsäure charakterisirt, scheidet sich aus concentrirter Lösung in dicken, glashellen Nadel-

¹⁾ In neuester Zeit ist auch die im Thierkörper erfolgende Umwandlung der Amidobenzoësäure in Uramidobenzoësäure von E. Salkowski zweifellos erwiesen worden.

aggregaten, aus verdünnter Lösung in schönen durchsichtigen, rhombischen Prismen aus, die eine Länge von $\frac{1}{2}$ Zoll und darüber erreichen. Den wohl ausgebildeten Krystallen haften aber stets an der Oberfläche kleine Mengen weisser undurchsichtiger Krystallwärzchen an, welche sich weder durch Umkrystallisiren aus Wasser noch aus Alkohol, wörm sie sich mit der Säure zusammen leicht auflösen, abscheiden lassen. Dagegen gelingt es leicht, sie bis auf einen geringen Rest mechanisch von den grossen Krystallen zu trennen. Eine geringfügige Beimengung dieser Substanz bleibt indess immer zurück und erklärt es vielleicht, dass die analytischen Zahlen für den Kohlenstoffgehalt ein wenig zu hoch ausfielen.

Ich glaubte früher, dass diese Verunreinigung der Krystalle aus unverändertem Tyrosin besteht; jetzt, nachdem Blendermann das Tyrosinhydantoin dargestellt hat, halte ich es für möglich, dass sie von einer an der Oberfläche stattfindenden geringfügigen Anhydridbildung herrührt. Auf einer Verwitterung kann sie nicht beruhen, da die Säure kein Krystallwasser enthält.

Die Tyrosinhydantoinensäure ist in Wasser und Alkohol sehr leicht löslich, in reinem Aether unlöslich; in alkoholhaltigem Aether löst sie sich ziemlich reichlich. Ihre Lösung besitzt intensiv saure Reaktion und sauren Geschmack. Die trockene Säure ist luftbeständig und kann ohne Veränderung aufbewahrt werden. Sie krystallisirt wasserfrei und gibt mit Alkalien leicht lösliche, mit vielen Metalloxyden unlösliche oder schwerlösliche Salze.

Im Capillarröhrchen erhitzt, beginnt sie bei 154 bis 155° C. zu schmelzen, doch ist sie bei 170° noch nicht völlig geschmolzen; bei weiterem Erhitzen tritt Zersetzung ein.

Die Säure gibt in wässriger Lösung mit einigen Tropfen Millon'schem Reagens beim Erwärmen intensive Rothfärbung und einen dunkelrothen Niederschlag. Diese Reaktion tritt noch bei sehr grosser Verdünnung in voller Schärfe ein.

Die Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

1. 0,2118 gr. bei 105° getrocknet, gaben 0,4228 CO₂ und 0,1109 H₂O, entspr. 51,44% C und 5,81% H.

2. 0,248 gr. bei 105° getrocknet, gaben 0,4947 CO₂ und 0,300 H₂O, entspr. 54,4% C und 5,82% H.
 3. 0,2758 gr. bei 105° getrocknet, gaben 30 ClN bei 17° C. und 768,2 B, entspr. 12,65% N.

Hieraus berechnet sich die Formel C₁₀H₁₂N₂O₄.

Gefunden:		
1.	2.	Berechnet:
C = 54,44%	54,4 %	C = 53,57%
H = 5,81	5,82 «	H = 5,35 «
N = 12,65 «	—	N = 12,5 «

Von den Salzen habe ich nur das gut krystallisierende Kaliumsalz analysirt. Man erhält dasselbe, wie oben angegeben, aus heisser alkoholischer Lösung in Krystallwarzen; bessere Krystalle entstehen, wenn man die verdünnte alkoholische Lösung mit Benzol bis zur beginnenden Trübung versetzt; das Salz schießt dann in Aggregaten von durchsichtigen Blättchen und Tafeln an. Die lufttrockene Verbindung enthält 1 Mol. Krystallwasser, welches bei 105° entweicht.

1. 0,2537 gr. Kaliumsalz, lufttrocken verloren bei 105° 0,0169 H₂O, entspr. 6,6% H₂O.
 2. 0,3626 gr. lufttrocken, verloren bei 105° 0,0240 H₂O, entspr. 6,6% H₂O.
 3. 0,2368 gr. bei 105° getrocknet, gaben 0,0755 K₂SO₄, entspr. 14,3% K.
 4. 0,3386 gr. bei 105° getrocknet, gaben 0,1086 K₂SO₄, entspr. 14,4% K.

Die Formel C₁₀H₁₁NO₄K + H₂O

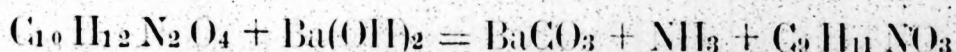
Gefunden:		Verlangt:
1.	2.	
H ₂ O = 6,6%	6,6%	H ₂ O = 6,4%

Die Formel C₁₀H₁₁NO₄K

Gefunden:		Verlangt:
1.	2.	
K = 14,3%	14,4%	K = 14,92%

Erhitzt man die Säure mit heissgesättigtem Barytwasser im zugeschmolzenen Rohre bei 130—140°, so bleibt

die Lösung fast völlig klar; bei 160–170° dagegen tritt Zersetzung ein, es bildet sich in der Flüssigkeit ein starker Niederschlag, welcher aus kohlensaurem Baryum besteht; die Flüssigkeit riecht stark nach Ammoniak und scheidet mit Essigsäure angesäuert, nach einiger Zeit reines Tyrosin in schönen seidenglänzenden Nadeln aus. Das Tyrosin wurde durch alle seine Reaktionen als solches constatirt. Die Säure zerfällt also beim Erhitzen mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in CO_2 , NH_3 und Tyrosin nach folgender Gleichung:



und ist hiernach unzweifelhaft als Tyrosinhydantoinensäure aufzufassen. Es kommt ihr also die Formel zu:



Weiter ist die Untersuchung der Säure zur Zeit, als ich die Tyrosinfütterungsversuche aufgab, nicht geführt worden; namentlich habe ich bisher auf ihre Umwandlung in das Anhydrid, welche bei anderen Uramidosäuren so leicht gelingt, mein Augenmerk nicht gerichtet. Vermuthlich wird sich die Tyrosinhydantoinensäure ohne Schwierigkeit in das entsprechende Hydantoin überführen lassen. Inzwischen ist das Tyrosinhydantoin, wie oben erwähnt, von Blendermann als Umwandlungsprodukt des Tyrosins im Kaninchenharn aufgefunden und folgendermassen beschrieben worden: «Die Verbindung ist in Wasser, Alkohol und Aether schwer, etwas leichter in heissem Wasser und noch leichter in Ammoniak löslich. Aus der ammoniakalischen Lösung wird die Substanz als weissliches krystallinisches Pulver gefällt. In verdünnter Mineralsäure, auch in concentrirter Salzsäure ist dieselbe, selbst beim Erwärmen, fast unlöslich. Aus viel kochendem Wasser kann sie unkrystallisirt werden und scheidet sich beim Erkalten in spitzen, gelb gefärbten Nadeln ab, die auch nach wiederholtem Umkrystallisiren nicht farblos werden. Die Krystalle beginnen bei ca. 270° C. sich zu bräunen, bei 275–280° C. unter Zersetzung zu schmelzen.»

«Ihre wässrige Lösung gibt beim Erwärmen mit Millon's Reagens eine rothe Färbung».

Es wird nun zu untersuchen sein, ob und bei welchen Thierklassen nach Darreichung von Tyrosin die Uranidsäure im Harn auftritt. Vielleicht ist sie im Urin derjenigen Kaninchen, bei welchen Blendermann das Hydatoin nicht nachweisen konnte, enthalten gewesen. Ich beabsichtige, die Tyrosinfütterungsversuche wieder vorzunehmen; da ich aber nicht weiss, ob mir dies schon in der nächsten Zeit möglich sein wird, so habe ich geglaubt, die Mittheilung der vorstehenden, schon vor ca. drei Jahren beendigten Untersuchung nicht länger hinauschieben zu sollen.