

Ueber das Verhalten des Tyrosins zur Hippursäurebildung.

Von

K. Baas, Cand. med.

(Der Redaction zugegangen am 8. Mai 1887.)

Die Kenntniss der der Benzolreihe angehörigen Verbindungen, welche im Harn auftreten, ist in der neueren Zeit besonders gefördert worden durch die Untersuchung der Fäulnissproducte des Eiweisses und dessen Spaltungsproducten, des Tyrosins und der Phenylamidopropionsäure. Durch diese Untersuchungen ist festgestellt worden, dass Phenol, Kresol, Oxyphenyllessigsäure und Oxyphenylpropionsäure, welche bei der Fäulniss von Eiweiss gebildet werden und im Harn vorkommen, Zersetzungs- und Umwandlungsproducte des Tyrosins sind.

Für den Fleischfresser ist der Beweis, dass diese Stoffwechselproducte ausschliesslich aus dem Tyrosin gebildet werden, als völlig erbracht anzusehen. Die Frage, ob beim Pflanzenfresser, wie Manche vermuthen, noch andere Quellen der Bildung der genannten Phenolderivate aus noch unbekanntem Bestandtheilen der Pflanzennahrung existiren, muss so lange als eine offene gelten, bis es den Anhängern dieser Ansicht gelingt, einen thatsächlichen Beweis für ihre Auffassung durch Darstellung oder Nachweis der von ihnen in der Pflanzennahrung vermutheten Stoffe zu führen.

Ausser den genannten Phenolderivaten treten bei der Fäulniss von Eiweiss regelmässig zwei Säuren auf, welche als Muttersubstanzen der Hippursäure (und der Phenacetursäure) erkannt worden sind: die Phenylpropionsäure und Phenyllessigsäure.

Die Hippursäure (und Phenacetursäure) ist beim Fleischfresser ausschliesslich auf die beiden zuletzt genannten Fäul-

nissproducte des Eiweisses zurückzuführen. Bezüglich der sehr beträchtlichen Hippursäureausscheidung bei manchen Pflanzenfressern besteht indessen die Möglichkeit oder Wahrscheinlichkeit, dass ein aliquoter Theil dieser Ausscheidung aus gewissen in der Pflanzennahrung enthaltenen aromatischen Stoffen (z. B. Chinasäure) stammt.

Die Bildung von Phenylpropionsäure und Phenylelessigsäure bei der Fäulniss der Phenylamidopropionsäure, welche, wie Schultze und Barbieri gezeigt haben, ein Spaltungsproduct der Eiweisskörper darstellt, ist in jeder Hinsicht analog der Bildung der Oxyphenylpropionsäure und der Oxyphenylelessigsäure aus dem Tyrosin.

Ausser diesen Analogien der Bildung der Phenolderivate und der Hippursäure bez. der Phenylpropionsäure und der Phenylelessigsäure hat man noch engere Beziehungen zwischen beiden Processen vermuthet.

Salkowski¹⁾ schloss aus einem Fäulnissversuch mit Tyrosin, bei welchem er Phenylpropionsäure gefunden hatte, dass letztere auch aus dem Tyrosin durch die Lebensthätigkeit der Spaltpilze gebildet werden könne, d. h. dass nicht bloss die Phenylamidopropionsäure, sondern auch das Tyrosin als Quelle der Hippursäurebildung anzusehen sei.

Die Zulässigkeit dieser Schlussfolgerung bestritten Schotten²⁾ und Baumann³⁾, weil es ihnen nicht gelang, das von Salkowski ausgeführte und der von ihm aufgestellten Theorie zu Grunde gelegte Experiment mit positivem Erfolge zu wiederholen, und weil Stoffwechselversuche mit Tyrosin bei verschiedenen Thieren für ihre Ansicht, dass das Tyrosin bei der Hippursäurebildung gänzlich unbetheiligt sei, zu sprechen schienen.

Salkowski⁴⁾ hat später zugegeben, dass auch ihm die erfolgreiche Wiederholung seines ersten Versuches über die Bildung der Phenylpropionsäure bei der Fäulniss von

1) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 451.

2) Ebenda, Ed. 8, S. 61.

3) Ebenda, Bd. 7, S. 555.

4) Ebenda, Bd. 9, S. 509.

Tyrosin nicht wieder gelungen sei; machte aber geltend, dass die Möglichkeit einer Täuschung irgend welcher Art bei seinem früheren Versuche — dem einzigen mit positivem Erfolge — ausgeschlossen sei und hält seinen darauf gegründeten Schluss im Wesentlichen aufrecht.

Für eine erneute Prüfung der vorliegenden Frage, welcher eine principielle Bedeutung nicht abzuspochen ist, schien auf Grund der vorliegenden Erfahrungen eine Wiederholung der Fäulnisversuche mit Tyrosin wenig versprechend. Mehr Aussicht auf Erfolg bot die Wiederaufnahme der Versuche über die Hippursäureausscheidung unter dem Einfluss gesteigerter Tyrosinzufuhr.

Brieger¹⁾, Blendermann²⁾ und Schotten³⁾ hatten zwar die Schicksale des Tyrosins unter dem Gesichtspunkte der Bildung von Phenolderivaten eingehend studirt, und Baumann hat nach Eingabe von Tyrosin im Harn von Menschen, vom Hund und von Kaninchen keine Vermehrung der Hippursäureausscheidung constatiren können. Allein genaue quantitative Bestimmungen der Hippursäureausscheidung bei Tyrosinzufuhr, welche auf eine Reihe von auf einander folgenden Tagen sich erstreckten, liegen bis jetzt nicht vor, obschon gerade solche Ermittlungen eventuell ein wesentliches Argument für die Ansicht Salkowski's bilden könnten.

Aus diesem Grunde und um die Entscheidung der angeregten Frage zu fördern, habe ich mich der Aufgabe unterzogen, die noch fehlenden Versuche anzustellen, über deren Ergebnisse in Folgendem berichtet wird.

Da die normale Hippursäureausscheidung beim Menschen eine nicht ganz geringe ist, und das Tyrosin im menschlichen Darm, wie die Versuche von Brieger und Blendermann gezeigt haben, leicht fault, hielt ich es für angezeigt, die Versuche mit dem Tyrosin beim Menschen anzustellen.

Während der Dauer einer Versuchsreihe war die Ernährung eine möglichst gleichmässige, vorwiegend Fleisch-

1) Ebenda, Bd. 2. S. 241.

2) Ebenda, Bd. 6. S. 249.

3) L. c.

kost, bei welcher jedoch Früchte und Gemüse nicht ganz ausgeschlossen blieben.

Das zu den Versuchen verwandte Tyrosin war auf die gewöhnliche Weise aus Horn dargestellt; um es von Phenylamidopropionsäure zu reinigen, wurde es mehrmals aus heissem Wasser umkrystallisirt. An den Versuchstagen wurde es in Milch aufgeschwemmt eingenommen und ohne Beschwerde vertragen.

Der im Laufe jedes Tages und der Nacht producirte Harn wurde gesammelt und gemessen, und von der Gesamtmenge immer 100 ccm. zur Bestimmung der Schwefelsäuren behufs Beurtheilung der Fäulniss im Darm, 400 ccm. zur Hippursäurebestimmung verwandt. An den Tyrosintagen wurden die Bestimmungen doppelt ausgeführt, ausserdem wurden vergleichende Untersuchungen über den Gehalt des Harns an Phenol wie an Oxysäuren angestellt.

Die Bestimmung der Schwefelsäuren geschah nach der von Baumann angegebenen Methode: Zuerst wurde der im Harn nach dem Ansäuern mit Essigsäure durch Chlorbaryum erhaltene Niederschlag abfiltrirt, ausgewaschen, gegläht und gewogen; zu den vereinigten Filtraten wurde Salzsäure gefügt, eine halbe Stunde gekocht und der neu entstandene Niederschlag nach derselben Weise wie der erste bestimmt. Bemerken muss ich noch, dass der Harn eiweissfrei war und die 100 ccm. Harn stets mit ebensoviele Wasser verdünnt wurden. In den Tabellen ist der erste Niederschlag mit A bezeichnet, der den Aetherschwefelsäuren entsprechende mit B; der Quotient $\frac{A}{B}$ verhält sich umgekehrt wie die Grösse der Fäulniss im Darm; seine Durchschnittsgrösse war ungefähr 10.

Die zur Hippursäurebestimmung benutzten 400 ccm. wurden nach dem Verfahren von Schmiedeberg und Bunge verarbeitet; dasselbe gibt gute Resultate, so dass ich die Hippursäure in wohlausgebildeten Nadeln mit nur wenig Farbstoff versetzt erhielt; in einigen Fällen, in denen wegen eines Fehlers in der Verarbeitung viel Farbstoff und

nicht krystallisirende Massen beigemischt waren, wurde die Wägung nicht ausgeführt.

Der durch Soda alkalisch gemachte und dann filtrirte Harn wurde auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingedampft; der Rückstand wurde mindestens fünfmal mit Alkohol ausgezogen, abfiltrirt und der Alkohol verdunstet. Der nun bleibende Rückstand wurde in Salzsäure gelöst bis zur schwach sauren Reaction und dann mindestens fünfmal mit Essigäther extrahirt. Der im Scheidetrichter abgetrennte Essigäther wurde mit Wasser zur Entfernung der Farbstoffe ausgeschüttelt und nach dem Abgiessen des Wassers abdestillirt. Der Rückstand, der fast ganz aus Hippursäure bestand, wurde noch mit Petroläther extrahirt, um allenfalls vorhandene Benzoesäure zu entfernen; doch blieb beim Verdunsten des Petroläthers nichts zurück, ein Beweis, dass alle Benzoesäure in Hippursäure umgewandelt worden war. Der Destillationsrückstand wurde nun in heissem Wasser gelöst, mit Thierkohle auf dem Wasserbade digerirt und heiss filtrirt. Beim Erkalten krystallisirte die Hippursäure aus, die nun bei 50—60° getrocknet und gewogen wurde. Die aus 400 cbcm. Harn erhaltene Hippursäure wurde auf die tägliche Gesamtmenge berechnet, woraus sich der Durchschnittswerth von 1,14 pro die ergab.

Als Ergebniss meiner ersten Versuchsreihe erhielt ich folgende Tabelle:

	Tägliche Harnmenge.	A.	B.	A : B.	Hippursäure		Bemerkungen.
					in 400 cbcm.	im Gesamtharn.	
I.	1400	0,480	0,056	8,57	—	—	
II.	1375	0,535	0,051	10,5	0,413	1,4197	
III.	1535	0,501	0,048	10,46	—	—	
IV.	1543	0,471	0,057	8,26	0,232	0,8949	
V.	1640	0,487	0,058	8,4	—	—	
VI.	1618	0,500	0,034	14,7	0,277	1,1205	
VII.	1480	0,492	0,035	14,06	0,284	1,0508	
VIII.	—	—	—	—	—	—	
IX.	1620	0,449	0,047	9,55	0,304	1,2312	Nach Einnahme von 3 gr. Tyrosin.

Wie aus den angeführten Zahlen hervorgeht, trat in dem Verhältniss A : B am Tyrosintage (IX) keine Veränderung ein; auch bei der Destillation des Harns nach Salzsäurezusatz zeigte das Destillat auf Zusatz von Bromwasser nicht mehr als eine leichte Trübung; das Tyrosin war also ohne Fäulniss resorbirt und völlig zerlegt worden. Die Hippursäuremenge überstieg nicht die normale Menge, die sogar schon mehr (1,4197 am II. gegen 1,2312 am IX. Tage) betragen hatte. Also war auch hierauf die Tyrosineinnahme ohne Einfluss geblieben.

In der zweiten Versuchsreihe nahm ich 13 gr. Tyrosin in drei Portionen ein; da nun möglicherweise die Wirkung der Tyrosineinnahme erst in den auf die Einnahme folgenden Tagen sich offenbaren konnte, wurde die Untersuchung noch auf die beiden nächsten Tage ausgedehnt, zugleich wurden auch die Oxysäuren zur Untersuchung herangezogen und mittelst der durch Millon's Reagens hervorgebrachten Färbung colorimetrisch verglichen mit dem Harn der anderen Tage.

Für die zweite Versuchsreihe erhielt ich folgende Tabelle:

	Tägliche Harnmenge.	A.	B.	A : B.	Hippursäure		Bemerkungen.
					in 400 cbcm.	im Gesamtharn.	
I.	1335	0,518	0,047	11,02	0,340	1,1347	
II.	1395	0,494	0,052	9,52	0,231	0,8056	
III.	1155	0,557	0,054	10,32	0,291	0,8403	
IV.	1435	0,528	0,049	10,77	0,241	0,8646	
V.	1270	0,691	0,055	12,56	0,270	0,8572	
VI.	1360	0,554	0,052	10,58	0,314	1,0676	Eingenommen: 13gr. Tyrosin.
VII.	1725	0,366	0,033	11,09	0,174	0,7504	
VIII.	1865	0,402	0,040	10,05	0,230	1,0724	

Auch hier blieb das Verhältniss der Schwefelsäuren dasselbe, wie auch die Fällung mit Bromwasser im Salzsäuredestillat keine Vermehrung des Phenols ergab. Desgleichen zeigte die Untersuchung auf Oxysäuren, dass diese den vorhergehenden Tagen gegenüber nicht vermehrt waren. Ein merk-

barer Einfluss auf die Hippursäureausscheidung ist ebenfalls nicht vorhanden, wie auch nach dem Resultat des ersten Versuches zu erwarten war.

Aus den geschilderten Versuchen geht hervor:

Dass das Tyrosin nicht immer im Darm vom Menschen diejenige Fäulnisszersetzung erleidet, welche, wie Brieger und Blendermann gefunden haben, zur Vermehrung der Phenol- und Kresolausscheidung, sowie der Oxysäuren führt; sondern dass trotz reichlicher Gegenwart von Spaltpilzen im Darm die völlige Resorption des Tyrosins stattfinden kann.

Die Versuche ergeben aber weiter:

Dass auch die normale Hippursäureproduction, welche während der ganzen Dauer der Versuche nahezu constant blieb, unabhängig von dem im Darm vorhandenen Tyrosin erfolgt. Sie weisen ferner darauf hin, dass die Fäulniss der Phenylamidopropionsäure unter anderen Bedingungen erfolgen kann, als die Fäulniss des Tyrosins.

Herrn Professor Baumann, dem ich das von mir angewandte Tyrosin verdanke, spreche ich hierfür, sowie für die Freundlichkeit, mit der er mich bei meinen Versuchen unterstützte, meinen herzlichen Dank aus.