

Ueber die Alkaptonsäuren.

Von

Huppert.

(Der Redaction zugegangen am 15. Juni 1897.)

In allen den zahlreichen in neuerer Zeit beschriebenen Fällen von Alkaptonurie ist Homogentisinsäure nachgewiesen worden. Nur Kirk hat eine andere, gut charakterisirte Säure, die Uroleucinsäure, aufgefunden, und dieser Fall würde demnach eine Ausnahme bilden. Da mir von roher Alkaptonsäure, welche ich der Gefälligkeit Dr. Kirk's verdanke, noch ein kleiner Rest zur Verfügung stand, habe ich in diesem die Homogentisinsäure nach dem Verfahren von Wolkow und Baumann¹⁾ aufgesucht.

Die rohe, ein graues Pulver darstellende Säure wurde in heissem Wasser gelöst, das Filtrat mit Bleizucker versetzt und sogleich von einem entstandenen flockigen Niederschlag getrennt. Beim Erkalten schieden sich mikroskopische prismatische Krystalle aus. Diese wurden gewaschen und abgepresst. 0,4581 gr. der lufttrockenen Krystalle verloren bei 100° 0,0418 gr. = 9,12% H₂O. Die wasserfreien Krystalle lieferten bei wiederholtem Behandeln mit Schwefelsäure im Porzellantiegel 0,2318 gr. PbSO₄ = 38,08% Pb. Homogentisinsaures Blei (C₈H₇O₄)₂Pb, 3H₂O verlangt 9,08% H₂O und 38,25% Pb. Das wasserfreie Salz schmolz unter vollständiger Schwärzung bei 214°. Wolkow und Baumann¹⁾ fanden den Schmelzpunkt bei 214—215°.

Darnach kann es keinem Zweifel unterliegen, dass Homogentisinsäure vorhanden war: der Fall von Kirk bildet also keine Ausnahme.

¹⁾ Wolkow und Baumann, diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 246.

Die Mutterlauge des homogentisinsäuren Bleis, welche die Eroleucinsäure enthalten musste, besass noch stark reducirende Eigenschaften. Bleiessig gab mit der Flüssigkeit in der Kälte eine wieder verschwindende Trübung. Da dieser Bleiniederschlag möglicher Weise durch den in der Mutterlauge befindlichen überschüssigen Bleizucker gelöst worden sein konnte, wurde die Mutterlauge mit Schwefelwasserstoff behandelt und das Filtrat eingekocht, wobei es seine Farbe nicht veränderte. Bleiessig gab jetzt in einer Probe der erkalteten Flüssigkeit einen bleibenden weissen, aber amorphen Niederschlag. Die Flüssigkeit wurde daher bis nahe zum Sieden erhitzt und mit Bleiessig versetzt, wobei sie sich etwas bräunte; ein geringer flockiger Niederschlag wurde sofort abfiltrirt. Beim Erkalten traten wieder prismatische Krystalle vom Aussehen des homogentisinsäuren Bleis auf. Von diesen verloren 0,3006 gr. bei 100° 0,0273 gr. = 9,08% und das getrocknete Salz gab 0,1520 gr. PbSO_4 = 37,99% Pb. Die mit basisch essigsaurem Blei gefällte Säure erwies sich also gleichfalls als Homogentisinsäure. Dieser Befund steht in Uebereinstimmung mit der Angabe von Ogden¹⁾, wonach sich bei Anwendung von basisch essigsaurem Blei die Krystalle des homogentisinsäuren Bleis reichlicher (und schneller) abschieden als da, wo neutrales Bleiacetat gebraucht wurde.

Die mit Bleiessig ausgefällte Flüssigkeit färbte sich mit Natronlauge an der Luft noch stark braun. Um die in ihr noch enthaltene Alkaptonsäure zu gewinnen, wurde sie durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, das Filtrat zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs gekocht, dann im Wasserbad abgedampft, und als es sich dunkler zu färben begann, im Vacuum über Schwefelsäure weiter concentrirt. Dabei wurde ein brauner, dickflüssiger Rückstand mit strahligen Krystallen erhalten, von welchen die oberflächlichen milchweis wurden. Aufgegossener Aether löste die Krystalle, verflüssigte aber nur die braune Masse, so dass die ätherische Lösung leicht von dem braunen Syrup abgegossen werden konnte. Bei spontaner Verdunstung

1) Ogden, diese Zeitschrift, Bd. 20. S. 282.

des Aethers setzte sich an der Wand und am Boden des Bechergläschens festhaftende braune Substanz ab, von welcher sich die ätherische Lösung leicht trennen liess. Die zuletzt noch weingelbe Lösung lieferte aber immer noch in braunem Syrup eingebettete Krystalle von der angegebenen Beschaffenheit. Sie liessen sich mit dem Spatel grösstentheils aus der dicken Mutterlauge entfernen, wurden abgepresst und nochmals aus Aether umkrystallisirt. Die Krystalle begannen bei $130,5^{\circ}$ zu schmelzen und waren bei $131,5^{\circ}$ vollständig geschmolzen. Kirk gibt den Schmelzpunkt der Uroleucinsäure zu $130,3^{\circ}$ an; eine früher von mir, aber nach dem Verfahren von Kirk, dargestellte Uroleucinsäure schmolz bei 133° .

Die Uroleucinsäure erscheint hier als Begleiterin der Homogentisinsäure; sie wurde in geringerer Menge gefunden als die Homogentisinsäure. Möglicher Weise tritt sie bei Alkaptonurie häufiger auf, als es scheint. Da sie der Bleifällung entgeht, ausser man verfährt wie Kirk so, dass man die Mutterlauge von den Bleiniederschlägen mit Bleiacetat sättigt, so kann sie leicht übersehen werden. Es sind auch Anzeichen vorhanden, dass sie neben der Homogentisinsäure angetroffen wurde. Baumann¹⁾ erkannte in der Glykosursäure von Marshall Homogentisinsäure. Marshall selbst gibt aber den Schmelzpunkt seiner Glykosursäure zu 140° an, während die Uroleucinsäure bei $130-133^{\circ}$, die Homogentisinsäure bei $146,5-147^{\circ}$ schmilzt. In dem wasserhaltigen Salz fand Marshall $33,58\%$ Pb; homogentisinsäures Blei $(C_8H_7O_4)_2Pb, 3H_2O$ enthält aber $34,78\%$ Pb, uroleucinsäures Blei von der Formel $(C_9H_9O_5)_2Pb, H_2O$ würde $33,43\%$ Pb enthalten, was viel besser zu dem Befund von Marshall passt.

Nach ihren allgemeinen Eigenschaften erscheinen die beiden Alkaptonsäuren verwandt. Die Homogentisinsäure enthält nach Wolkow und Baumann²⁾ zwei Hydroxyle, und zwar im Benzolkern, die Uroleucinsäure drei Hydroxyle von nicht bekannter Stellung. Als die Homogentisinsäure noch nicht aufgefunden war, habe ich³⁾ die Uroleucinsäure in ihrem Verhalten bei der

¹⁾ Baumann, diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 241.

²⁾ Wolkow und Baumann, a. a. O., S. 241.

³⁾ Huppert, Neubauer, Analyse des Harns, 9. Aufl. 1890, S. 155.

Millon'schen Reaction mit der Gallussäure, verglichen und gefunden, dass sich beide bei der aufeinanderfolgenden Anwendung von salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kali fast ganz gleich verhalten. Dieser Umstand hat mich auf die Vermuthung gebracht, dass die Uroleucinsäure eine Trioxyphenyl-Propionsäure zu sein scheine. Neuerdings habe ich alle drei Säuren mit dem fertigen Millon'schen Reagens behandelt; die Homogentisinsäure gibt dabei, in Uebereinstimmung mit dem Befund von Wolkow und Baumann¹⁾, in der Kälte langsam einen citronengelben Niederschlag, der beim Stehen allmählig orange, beim Erwärmen hellziegelroth wird. Genau ebenso verhält sich die Uroleucinsäure, sodass sich beide Säuren durch diese Reaction nicht unterscheiden lassen. Die Gallussäure dagegen gibt in der Kälte sogleich einen flockigen ziegelrothen Niederschlag, der sich beim Erwärmen hellbraun färbt. Dieses gleichartige Verhalten der beiden Alkaptonsäuren könnte zu der Vermuthung führen, dass auch die Uroleucinsäure eine der Homogentisinsäure ähnliche Constitution besässe, im Benzolkern gleichfalls nur zwei Hydroxyle enthielte, das dritte in der Seitenkette.

Ein sicheres Urtheil lässt sich aus dieser Reaction nicht gewinnen. Um weiteren Aufschluss zu erhalten, habe ich beide Alkaptonsäuren methylyrt, der Oxydation unterworfen und die Oxydationsprodukte mit einander verglichen.

Zu diesem Zwecke wurde Natrium in entwässertem Methylalkohol gelöst, die Säure eingetragen und die Lösung nach Zusatz von Methyljodid im geschlossenen Rohr 6 Stunden auf 100° erhitzt. Auf das Molekül Uroleucinsäure wurden 4 Atome Natrium und 4 Moleküle Methyljodid, für die Homogentisinsäure nur 3 Atome Natrium und 3 Moleküle Methyljodid verwendet. Beide Lösungen färbten sich dabei braun. Nach dem Erhitzen wurde der Methylalkohol verdunstet, der sauer reagirende Rückstand in Wasser suspendirt und im Schwarz'schen Apparat mit Aether ausgezogen. Der Aether hinterliess in beiden Fällen einen braunen, mit Krystallen durchsetzten Syrup. Dieser wurde zur Verseifung

¹⁾ Wolkow und Baumann, a. a. O., S. 245.

des gebildeten Methylsters der Säure mit alkoholischer Kalilösung gekocht, der Alkohol verjagt, der Rückstand in Wasser gelöst und mit der zur Oxydation der Seitenkette bis zur Carboxylgruppe erforderlichen Permanganatmenge auf dem Wasserbade erwärmt. Nach Vollendung der Reduction wurde das ausgeschiedene Mangansuperoxyd durch Einleiten von schwefliger Säure gelöst und die Lösung ausgeäthert. Beim Verdunsten des Aethers schieden sich in einer braunen flüssigen Substanz Krystalle aus, welche sich durch häufiges Umkrystallisiren aus Alkohol und Abpressen rein erhalten liessen. Zuletzt wurden die Krystalle in heissem Wasser gelöst und die Lösung im Vacuum verdunstet.

Es wurden so aus beiden Alkaptonsäuren lange dünne, farb- und geruchlose seidenglänzende spröde Nadeln, oder aus derselben Lösung bei langsamerer Verdunstung kurze dicke Krystalle erhalten, die sich schwer in kaltem Wasser lösen, leicht in heissem Wasser, in Alkohol und in Aether. Die wässrige Lösung reagirte stark sauer. Die Produkte aus beiden Alkaptonsäuren schmolzen scharf bei 116° .

Die methyilirte Uroleucinsäure gibt sonach dasselbe Oxydationsprodukt, wie die methyilirte Homogentisinsäure, und es ist darum die Annahme gerechtfertigt, dass auch die Uroleucinsäure nur zwei Hydroxyle im Benzolkern enthält. Die Uroleucinsäure ist also als eine Dioxyphenyl-Milchsäure aufzufassen, und mit Rücksicht auf den Ursprung der Homogentisinsäure aus dem Tyrosin käme ihr die Constitution $C_6H_3(OH)_2 \cdot CH_2 \cdot CH(OH) \cdot COOH$ zu.

Was ich sonst noch über die Eigenschaften der Oxydationsprodukte ermitteln konnte, ist sehr wenig; ich habe von jeder der Alkaptonsäuren kaum 1 gr. zur Verfügung gehabt und die Ausbeute an reinem Oxydationsprodukt war sehr gering. Das Produkt gab mit Eisenchlorid keine Färbung, die ammoniakalische Lösung reducirte Silbernitrat auch in der Wärme nicht, die neutrale Lösung des Ammonsalzes schied auf Zusatz von Silbernitrat einen feinflockigen amorphen lichtbeständigen Niederschlag ab, beim Auswaschen desselben ging fortwährend schwarzmilchig trübe Flüssigkeit durch das Filter.