

Das Verhalten des Glycyl-l-Tyrosins im Organismus des Hundes bei subkutaner Einführung.

Von

Emil Abderhalden und Peter Rona.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)
Der Redaktion zugegangen am 19. August 1905.)

Die Versuche von Emil Fischer und Emil Abderhalden¹⁾ haben gezeigt, daß die verschiedenartigen künstlichen Peptide ein recht verschiedenes Verhalten gegenüber dem Pankreassaft des Hundes zeigen. Während die einen, wie z. B. die Tyrosin- und Cystinpeptide, recht rasch gespalten werden, widerstehen andere der Einwirkung des Pankreasfermentes vollständig. Von besonderem Interesse war das Verhalten der racemischen Peptide, welche (mit Ausnahme der Glycinketten) in vielen Fällen asymmetrisch abgebaut wurden. Es schien uns nun von Interesse, zu verfolgen, ob der tierische Organismus den Peptiden gegenüber bei parenteraler Einführung derselben ein ähnliches Verhalten zeigt, wie dies bei der Einwirkung des Pankreassaftes beobachtet worden ist. In diesem speziellen Falle verfolgten wir noch ein anderes Problem. Bei der Alkaptonurie sollen, wie jetzt wohl allgemein angenommen wird, Tyrosin und auch Phenylalanin (Langstein und Falta) als Homogentisinsäure im Harn ausgeschieden werden. Wie Falta nachgewiesen hat, ist dies nicht nur der Fall für eingeführtes Phenylalanin und Tyrosin, sondern es gilt dies auch für die im Eiweiß enthaltenen aromatischen Gruppen, und zwar sollen diese fast quantitativ, jedenfalls zum größten Teil als Homogentisinsäure im Harn erscheinen. Diese Beobachtungen möchten wir nun dazu benutzen,

¹⁾ Sitzungsberichte der kgl. Preussischen Akademie der Wissenschaften, Bd. X, 1905, und Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 52, 1905.

um die Frage zu entscheiden, in welchen Kombinationen Phenylalanin und Tyrosin im Eiweißmolekül vorhanden sind. Wenn es gelingt, Peptide darzustellen, welche Phenylalanin resp. Tyrosin enthalten, und die beim Alkaptonuriker keine Steigerung der Homogentisinsäureausscheidung bewirken, während andere Kombinationen eine solche herbeiführen, so muß uns dieses Verhalten ein weiteres biologisches Mittel an die Hand geben, um aus der großen Anzahl der möglichen Kombinationen von Aminosäuren die den natürlich vorkommenden entsprechenden auszuwählen. Diese Untersuchungen sind bereits in Gemeinschaft mit Herrn Dr. O. Rostoski in Würzburg in Angriff genommen worden.

Als Vorversuch haben wir festzustellen gesucht, ob der normale Organismus imstande ist, die in Betracht kommenden Peptide abzubauen. Vorläufig sind erst die Versuche mit dem Glycyl-l-Tyrosin zum Abschluß gebracht. Es liegt dies daran, daß diese Untersuchungen wegen der schwierigen und zeitraubenden Beschaffung des Ausgangsmateriales äußerst mühsam sind.

Die Darstellung des Glycyl-l-Tyrosins erfolgte nach der von E. Fischer¹⁾ beschriebenen Methode. Das verwendete Tyrosin stammte zum Teil aus Seide, zum Teil aus Casein.

9 g l-Tyrosin wurden in 100 ccm Normalnatronlauge gelöst, in einer Kältemischung abgekühlt, nun abwechselnd unter starkem Schütteln 6,2 g Chloracetylchlorid und 50 ccm Normalnatronlauge zugefügt und nach Vollendung der Reaktion mit 90 ccm Salzsäure versetzt. Vom sehr oft während der Reaktion ausfallenden Tyrosin wurde abfiltriert, dann die Lösung im Vacuum zur Trockene verdampft, und der Rückstand mit heißem (reinem!) Aceton extrahiert. Beim Abdunsten des Acetons kristallisiert das Chloracetyl-l-Tyrosin aus. Zur weiteren Reinigung wird es aus heißem Wasser umkristallisiert. Das gereinigte Produkt läßt man mit der fünffachen Menge von 25%igem Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur 5 Tage lang stehen, dampft dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade stark ein und gießt sie nun unter stetem Umrühren in ab-

¹⁾ Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXVII, S. 2493, 1904.

soluten Alkohol, wobei das Dipeptid in weißen Flocken ausfällt. Durch zwei bis dreimaliges Lösen in wenig Wasser und Fällen mit Alkohol erhält man das Produkt chlorfrei. Ausbeute 65% der Theorie.

Da das Glycyl-l-Tyrosin so außerordentlich leicht durch Pankreasferment angegriffen und in seine Komponenten zerlegt wird,¹⁾ schien es uns überflüssig, Versuche mit per os verabfolgtem Peptid auszuführen. Wir gingen deshalb sofort zur subkutanen Einführung über. Der 7 kg schwere Hund erhielt während 7 Tagen 15 g Glycyl-l-Tyrosin. Der Urin wurde stets sorgfältig gesammelt und am dritten und siebenten Tage genau auf Tyrosin und Glycocoll resp. Peptid untersucht. Der Urin gab mit Millons Reagens schon vor dem Beginn des Versuches eine eigentümliche, ziegelrote Fällung. Sie trat sofort in der Kälte auf und verschwand sehr rasch beim Erwärmen. Diese Reaktion zeigte sich im gleichen Maße während der ganzen Dauer des Versuches. Die gesammelten Harnmengen wurden zunächst mit Bleiacetat entfärbt, im Filtrat das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt, und das Filtrat vom Bleisulfid stark eingeeengt. Es schieden sich wohl Kristallmassen aus, Tyrosin ließ sich jedoch nicht isolieren. Glycocoll und Tyrosin ließen sich auch deshalb ausschließen, weil der Versuch, mit β -Naphthalinsulfochlorid aus dem entfärbten und unentfärbten Harn ein Derivat zu gewinnen, jedesmal völlig negativ ausfiel. Es darf deshalb geschlossen werden, daß das subkutan eingeführte Glycyl-l-Tyrosin völlig abgebaut worden ist. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, in welcher Weise dieser Abbau erfolgt. Wir beabsichtigen, vor allem die Harnstoffbildung zu verfolgen. Beim vorliegenden Falle wurden diese Untersuchungen durch die großen Schwankungen in der Stickstoffausscheidung, die schon vor dem eigentlichen Versuche bestanden und nicht zu beseitigen waren, leider vereitelt.

¹⁾ E. Fischer und E. Abderhalden, l. c.