

# Zur Kenntnis der jodbindenden Gruppe der natürlich vorkommenden Jodeiweißkörper.

## Die Konstitution der Jodgorgosäure.

Von

**M. Henze.**

(Aus dem chemisch-physiologischen Laboratorium der zoologischen Station zu Neapel.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. Januar 1907.)

Die Frage, welche Gruppe oder Gruppen im Molekül der natürlich vorkommenden Jodeiweißkörper das Halogen binden, hat noch keine befriedigende Lösung gefunden. Man hat zwar umgekehrt eine größere Zahl Eiweißsubstanzen auf künstlichem Wege jodiert und nach Aufspaltung der dabei entstandenen Produkte durch Säuren oder Fermente nach charakteristischen, jodierten Verbindungen gesucht, doch lassen sich die hierbei zu erwartenden Resultate nicht ohne weiteres auf die Jodbindungsverhältnisse in den natürlich vorkommenden Jodeiweißstoffen übertragen. — Die biologisch interessante Fähigkeit mancher Organismen, Jod in antionisierter Form in gewissen Organen resp. gewissen Proteinen anzureichern, kann, möglicherweise wenigstens, in ganz anderer Weise und in ganz anderen Komplexen des Moleküls erfolgen, als die künstliche Einführung von Jod in von Natur aus halogenfreie Eiweißstoffe. Bei letzterem Vorgehen kommt es gewiß sehr auf die Bedingungen an, unter denen die Jodierung erfolgt; verhalten sich doch aliphatische Körper gegenüber der Einwirkung von Halogen im allgemeinen anders als aromatische. Mit Hinsicht auf biologische Verhältnisse läßt sich mit Sicherheit nur dann etwas über die jodbindende Gruppe aussagen, wenn es gelingt, die natürlichen Jodeiweißkörper so zu spalten, daß sich wohl charakterisierte Jodverbindungen hierbei isolieren lassen.

Drechsel<sup>1)</sup> hat zum erstenmal aus einer natürlichen Jod-

<sup>1)</sup> Drechsel, Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXXIII, S. 90.

eiweißsubstanz, dem Gorgonin, eine krystallisierende, jodreiche Substanz dargestellt, in der er eine Jodaminobuttersäure vermutete. Bis heute kennt man außer dieser, Jodgorgosäure genannten Verbindung keine andere von einem Jodeiweißkörper derivierende, krystallisierende Jodverbindung.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> konnte ich zeigen, daß die Jodgorgosäure tatsächlich existiert, was anderen Beobachtungen zufolge zweifelhaft geworden war. Die Annahme Drechsels, es liege eine Jodaminobuttersäure vor, bewahrheitete sich dagegen nicht. Nur soviel ließ sich infolge der schweren Zugänglichkeit der Substanz behaupten, daß es sich um eine der aromatischen Reihe angehörende Verbindung handle, und ich erwähnte damals, daß es die nächste Aufgabe sein müsse, zu versuchen, ob man eventuell durch Herausnahme des Jods zum Tyrosin oder wenigstens zu einer die Millonsche Reaktion gebenden Substanz gelangen könne.

Schon kurze Zeit darauf erwies sich diese Vermutung als richtig. Durch Erhitzen im Bombenrohr in wässriger Lösung entstand aus Jodgorgosäure neben harzigen Produkten eine Substanz, die starke Millonsche Reaktion gab. Beim Erwärmen mit Jodwasserstoffsäure geht die Jodgorgosäure sogar glatt in Tyrosin über. Trotz dieses Resultates schien mir die Identität der Jodgorgosäure mit einem jodierten Tyrosin (den Analysen zufolge konnte es sich nur um ein Dijodtyrosin handeln) noch mehr als zweifelhaft, da die von Drechsel und mir vorliegenden analytischen Unterlagen dieser Annahme nicht hinreichend Rechnung trugen. Eine andere Beobachtung schien sich ebenfalls nicht mit der Annahme eines dijodierten Tyrosins zu vereinen. Es war die Tatsache, daß Jodgorgosäure selbst aus 5%iger schwefelsaurer Lösung durch Phosphorwolframsäure fällbar ist, sodaß sich diese Methode sogar zur Trennung der Säure von den übrigen Spaltungsprodukten benutzen ließ.<sup>2)</sup> Tyrosin ist be-

<sup>1)</sup> M. Henze, Zur Chemie des Gorgonins und der Jodgorgosäure, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 60.

<sup>2)</sup> Ich habe auf diese Weise eine erstmalige rohe Abtrennung der Jodgorgosäure (natürlich zusammen mit anderen durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen) aus den Hydrolyseprodukten der Gerüst-

kanntlich selbst aus konzentrierter Lösung nicht durch Phosphorwolframsäure zu fällen, um so weniger sollte man erwarten, daß Einführung weiterer negativer Radikale in das Molekül die basischen Eigenschaften desselben erhöhen würde. Tatsächlich ist dies jedoch, wie auch weiter unten erwähnt, der Fall.

Trotzdem wurde versucht, zunächst einmal synthetisch Dijodtyrosin, denn nur um ein solches konnte es sich dem Jodgehalte nach eventuell handeln, darzustellen und mit Jodgorgosäure zu vergleichen. In der Literatur findet sich ein Jodtyrosin mit 26% Jod von Vaubel<sup>1)</sup> ohne weitere Angaben erwähnt. (Dijodtyrosin verlangt 58,66% Jod.) Eingehender hat sich später Oswald<sup>2)</sup> mit der Darstellung eines jodierten Tyrosins befaßt, ohne zu bestimmten Resultaten gelangt zu sein. Während meiner Untersuchungen erschien eine Arbeit von Wheeler und Jamieson, betitelt: Synthesis of Jodgorgoic acid,<sup>3)</sup> die mich sehr interessierte. Verfasser erhielten durch Jodierung von Tyrosin in alkalischer Lösung ein Dijodtyrosin, das sie für identisch mit Jodgorgosäure erklärten. Ich wiederholte ihre Angaben und erhielt mit Leichtigkeit aus Tyrosin, das durch Kochen von Hornspänen mit Schwefelsäure gewonnen worden war, Dijodtyrosin. Es zeigte sich aber, daß die Eigenschaften dieses Dijodtyrosins absolut nicht mit denen der Jodgorgosäure übereinstimmten. Das Dijodtyrosin von Wheeler und Jamieson unterscheidet sich schon äußerlich durch seine Krystallform, die dem des Tyrosins zum Verwechseln ähnlich ist, während die Jodgorgosäure in den von Drechsel und mir beschriebenen, so charakteristischen, lanzettförmigen und wetzsteinförmigen Formen krystallisiert und außerordentlich viel schwerer in Wasser löslich ist. Weitere Unterschiede siehe später.

---

substanzen von *Gorgonia verucosa* und *Gorgonella sarmentosa* erreicht. Es ist damit zugleich erwiesen, daß in der Keratinsubstanz auch dieser beiden Korallen die Jodgorgosäure vorkommt, doch ist *Gorgonia Cavolini* weit reicher an genannter Säure.

<sup>1)</sup> Vaubel, Chem. Zeitung, Bd. XXIII, Nr. 98, S. 1078.

<sup>2)</sup> A. Oswald, Über die jodbindende Gruppe der Proteinstoffe, Hofmeisters Beiträge, Bd. III, S. 365.

<sup>3)</sup> H. L. Wheeler und G. S. Jamieson, Americ. Journ. of Chem., Bd. XXXIII, S. 365.

Bekanntlich bildet sich die Jodgorgosäure beim Behandeln des Gorgonins mit Barytwasser. Andererseits weiß man, daß bei der Hydrolyse von Eiweißkörpern mit Alkalien stets optisch inaktive Aminosäuren entstehen. Die Möglichkeit, daß nun hier das optische Drehungsvermögen allein die auffallenden Differenzen bedingen könnte, schien zunächst wenig wahrscheinlich. Dennoch versuchte ich aus inaktivem Tyrosin inaktives Dijodtyrosin zu bereiten und dieses mit Jodgorgosäure zu vergleichen. Der umgekehrte Weg, l-Dijodtyrosin aus Gorgonin durch Säurehydrolyse zu gewinnen, ist nicht anwendbar, da Dijodtyrosin bei längerer Säurebehandlung zerfällt.

Meine Vermutung bestätigte sich. Das inaktive Dijodtyrosin ist identisch mit Jodgorgosäure.

Darstellung der Jodgorgosäure (inaktives Dijodtyrosin).

Als Ausgangsmaterial diene inaktives Tyrosin. Dasselbe wurde aus den Zersetzungsprodukten isoliert, welche durch ca. 36stündiges Kochen von Hornspänen mit Barytwasser entstehen. (500 g Hornspäne, 1500 g Baryumhydrat, 3 l Wasser.) Die Verarbeitung auf Tyrosin und dessen Reindarstellung erfolgte in der gewöhnlichen Weise. Zuletzt wurde es aus ammoniakalischem, verdünntem Alkohol umkrystallisiert.

Zur Jodierung wurden im allgemeinen nicht mehr als 3 g Tyrosin in ca. 50 ccm Wasser, das 2 g Kaliumhydroxyd (2 Mol. KOH pro Mol.) enthielt, gelöst. Hierauf wurden ca. 7 g Jod in Jodkaliumlösung langsam unter sehr kräftigem Umschütteln zutropft, bis die Flüssigkeit eine deutliche, bleibende Jodfärbung angenommen hatte. Gegen Ende der Reaktion beginnt das Jodierungsprodukt sich als sandiges Pulver langsam auszuscheiden und in der Ruhe zu Boden zu setzen. Verläuft die Reaktion glatt, so erhält man aus 3 g Tyrosin ca. 3,5 g, aus 4 g ca. 6,3 g Jodierungsprodukt. Ich fand es weit vorteilhafter, wenigstens bei Jodierung des inaktiven Tyrosins, das Jod in Lösung zuzutropfen und nicht als Pulver zuzusetzen, wie Wheeler und Jamieson verfahren. Man erhält beim inaktiven Produkt sonst leicht stark gefärbte Produkte oder wohl auch gar keine Abscheidung des gesuchten Körpers. Bei glatt verlaufener

Reaktion ist das Reaktionsprodukt ein graugelbliches Pulver, das am besten zunächst in verdünntem, alkoholischem Ammoniak gelöst wird. Aus dieser Lösung scheidet es sich beim Verdunsten des Ammoniaks in fast weißer, feinkrystalliner Form ab. Die Krystalle haben, unter dem Mikroskop betrachtet, die charakteristischen Lanzett- oder Wetzsteinformen der Jodgorgosäure. Zur weiteren Reinigung löst man in heißem, wässerigen Ammoniak und fällt heiß mit Essigsäure. Zuletzt wurde noch zweimal aus Wasser umkrystallisiert, in dem das inaktive Dijodtyrosin außerordentlich schwer löslich ist. Die erwähnten Wetzsteinformen wandeln sich bei fortgesetzter Reinigung mehr und mehr in mikroskopische, glasglänzende, rechteckige, flache Säulchen um.

Dieses inaktive Dijodtyrosin kann lange mit Wasser gekocht oder daraus umkrystallisiert werden, ohne daß eine Jodabspaltung zu beobachten wäre. Das l-Dijodtyrosin verträgt diese Behandlung durchaus nicht und ich muß darin Wheeler und Jamieson widersprechen. Es ist mir sehr oft passiert, daß das l-Dijodtyrosin, als ich es in heißem Wasser zu lösen suchte, sich völlig zersetzte. Stets aber konnte ich, wenn etwas von der Substanz in heißem Wasser durch Aufkochen gelöst wurde, beim Erkalten in der Flüssigkeit aufs deutlichste Jod z. B. mit Stärkelösung nachweisen. Einer anderen eigentümlichen Beobachtung, die nur das l-Dijodtyrosin zeigt, soll später noch gedacht werden.

Die Analyse des inaktiven Dijodtyrosins verursachte längere Zeit Schwierigkeiten. Offenbar verbrennt die Substanz schwer und liefert leicht Kohlenoxyd, sodaß die Zahlen für Kohlenstoff zu niedrig, die für Stickstoff zu hoch ausfallen. Dieses Verhalten zeigte sowohl die Jodgorgosäure, als auch das Dijodtyrosin. Auffälligerweise blieben auch die Werte für den Jodgehalt bei beiden Verbindungen gleichmäßig und sogar völlig übereinstimmend um ca. 1% hinter den theoretischen zurück, sodaß es zweifelhaft wurde, ob beide Verbindungen wirklich die Konstitution eines Dijodtyrosins hatten. Die Anwendung anderer Methoden führte schließlich zum Ziel. Es wurden die Kohlenstoff- und Stickstoffbestimmungen auf nassem Wege nach Messinger-Fritsch und die Jodbestimmungen durch Glühen der

Substanz mit Kalk ausgeführt. Die Substanz wurde bei  $110^{\circ}$  getrocknet.

0,2330 g gaben 0,2146 g  $\text{CO}_2$  und verbrauchten nach Kjeldahl verbrannt 6,05 ccm  $n/10\text{-HCl}$ .

0,2144 g verbrauchten nach Kjeldahl verbrannt 4,70 ccm  $n/10\text{-HCl}$ .  $\text{CO}_2$  verloren.

0,2568 g gaben 0,2290 g  $\text{CO}_2$ .

Gefunden:  $\text{C} = 25,12\%$ ;  $24,32\%$ ;  $\text{N} = 3,29\%$ ;  $3,07\%$

Berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3\text{NJ}_2$ :  $\text{C} = 24,94\%$ ;  $\text{N} = 3,23\%$ .

Die Jodbestimmung durch Glühen mit Kalk gab

0,3112 g Substanz 0,3365 g  $\text{AgJ}$

Gefunden:  $\text{J} = 58,42\%$

Berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3\text{NJ}_2$ :  $\text{J} = 58,66\%$ .<sup>1)</sup>

Das inaktive Dijodtyrosin schmilzt wie die Jodgorgosäure wenig unterhalb  $200^{\circ}$ , d. h. ein wenig höher als das l-Dijodtyrosin. Da beim Schmelzpunkt Zersetzung eintritt, ist derselbe unscharf. Mischungen von r-Dijodtyrosin und Jodgorgosäure zeigten den gleichen Zersetzungspunkt. Sie geben keine Millon'sche Reaktion und gehen beim Erwärmen mit Jodwasserstoffsäure in Tyrosin über. Der Ausfall der Millon-Reaktion dürfte beweisend sein für die o-Stellung der beiden Jodatome zur Hydroxylgruppe. r-Dijodtyrosin und Jodgorgosäure sind beide, wie das Wheeler und Jamieson auch von dem l-Dijodtyrosin erwähnen, durch Phosphorwolframsäure fällbar. Der Niederschlag ist erst hellgelblich und flockig, wandelt sich aber in kurzem in eine schmierig gelbrote Substanz um, die unter Wasser mit der Zeit wieder fest wird. Durch Zerlegung mit Baryt wird unveränderte Jodgorgosäure wieder daraus abgeschieden. Silber-, Kupfer- und Bleisalze fällen die Verbindungen gleichfalls.

Ein aus Jodgorgosäure unter Ammoniakzusatz dargestelltes Silbersalz gab auf ein Disilbersalz stimmende Zahlen:

0,1564 g Substanz gaben 0,0681 g  $\text{AgCl}$

Berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3\text{NJ}_2$ :  $\text{Ag} = 33,38\%$

Gefunden:  $\text{Ag} = 32,77\%$

<sup>1)</sup> Die Jodbestimmungen nach Carius, die übereinstimmend stets zu niedrig ausfielen, seien nebenbei angeführt. Es wurden gefunden:

$\text{J} = 57,88$ ;  $57,69$ ;  $57,32$ ;  $57,69$ ;  $57,80\%$ .

## Nachtrag zum l-Dijodtyrosin.

Den Angaben Wheelers und Jamiesons über das von ihnen beschriebene l-Dijodtyrosin möchte ich nur zwei Bemerkungen zufügen. Die eine bezieht sich auf die des öfteren beobachtete Zersetzlichkeit der Verbindung beim Versuche, dieselbe aus Wasser umzukrystallisieren, was Verfasser nicht erwähnen. Ich fand es zweckmäßig, die Verbindung in warmem mit Ammoniak versetzten Wasser zu lösen und hieraus mit Essigsäure zu fällen. Die Jodbestimmung nach Carius ließ mich auch hier im Stich, was ich aber auf eine eventuelle Abspaltung von Jod zurückführte. Einfaches Abdampfen der Verbindung in mit Silbernitrat versetzter Salpetersäure, wie von Wheeler und Jamieson angegeben, gab mir erst recht keine stimmenden Zahlen.

Zum Schluß sei noch eine eigentümliche Eigenschaft, die nur das l-Dijodtyrosin zeigt, erwähnt. Kocht man etwas l-Dijodtyrosin mit verdünntem Alkohol, so beobachtet man ein eigentümliches Aufquellen der Krystalle. Kocht man nunmehr weiter unter vorsichtiger Zufügung von etwas Wasser, so erhält man schließlich eine schwach gelbliche Lösung (Jod), die beim Erkalten vollständig zu einer absolut klaren, durchsichtigen Gallerte geseht. Man kann das Gefäß umdrehen, ohne daß die Gelatine herausfällt. In offenen, weiten Gefäßen beobachtete ich erst nach Monaten eine sehr langsam fortschreitende Krystallbildung in solchen Gelatinen. Die Krystalle bestehen augenscheinlich aus unverändertem l-Dijod-tyrosin.

---