

Weitere Versuche über die Wirkung der Tyrosinase aus *Russula delica* auf tyrosinhaltige Polypeptide und auf Suprarenin.

Von

Emil Abderhalden und Markus Guggenheim.

(Aus dem physiol. Institut der tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. August 1908.)

Wir haben vor kurzem¹⁾ über eine Reihe von Versuchen berichtet, die den Zweck hatten, den Einfluß der aus *Russula delica* gewonnenen Oxydase, Tyrosinase genannt, auf tyrosinhaltige Polypeptide unter verschiedenartigen Bedingungen zu prüfen. Wir haben diese Versuche mit einigen neuerdings²⁾ dargestellten Derivaten des Tyrosins, und zwar mit d-Alanyl-l-tyrosin und l-Leucyl-l-tyrosin fortgesetzt. Wir hatten ferner Gelegenheit, eine früher schon gemachte Beobachtung zu ergänzen.³⁾ Die Tyrosinase bewirkt nämlich auch in Lösungen von Suprarenin sehr bald Rotfärbung. Nach kurzer Zeit tritt Abscheidung von dunkelgefärbten Flocken ein. Der Güte von Herrn Dr. Ammelburg in Höchst (Farbwerke Meister Lucius & Brüning) verdanken wir synthetisches dl-Suprarenin und ferner aus diesem durch Spaltung gewonnenes d-Suprarenin.⁴⁾ Es war von Interesse, festzustellen, ob sich ein Unterschied in der Raschheit der Oxydation bei Verwendung von l-, d- und dl-Suprarenin unter dem Einfluß von Tyrosinase geltend macht. Das war nicht der Fall. Die Lösungen aller drei Präparate färbten sich gleichzeitig rot. Das l-Suprarenin zeigte in n-Salzsäure gelöst $[\alpha]_{20}^D = - 50,72^\circ$. 0,3067 g Substanz in 1,56 ccm n-Salzsäure und 2,44 ccm Wasser gelöst. Gesamt-

¹⁾ Emil Abderhalden und Markus Guggenheim, Versuche über die Wirkung der Tyrosinase aus *Russula delica* auf Tyrosin, tyrosinhaltige Polypeptide und einige andere Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen. Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 331, 1908.

²⁾ Emil Abderhalden und Alfred Hirszowsky, Synthesen von Polypeptiden. Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft, Jahrgang 41, 1908.

³⁾ Vgl. hierzu auch C. Neuberg, Enzymatische Umwandlung von Adrenalin. Biochem. Zeitschrift, Bd. VIII, S. 383, 1908.

⁴⁾ Über die Spaltung von dl-Suprarenin in seine Komponenten wird bald eine ausführlichere Mitteilung folgen.

gewicht der Lösung 4,5224 g. $d = 1,029$. $\alpha = -1,77^\circ$ im $1/2$ -dm-Rohr bei weißem Licht.

Durch Spaltung von synthetischem dl-Suprarenin erhaltenes l-Suprarenin¹⁾ zeigte $[\alpha]_{20}^D = -50,40^\circ$.

0,2697 g l-Suprarenin in 1,36 ccm n-Salzsäure + 2,64 ccm Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4,3864 g. $d = 1,027$. $\alpha = -1,59^\circ$ im $1/2$ -dm-Rohr bei weißem Licht.

Für die andere Komponente, das d-Suprarenin, fanden wir $[\alpha]_{20}^D = +50,49^\circ$.

0,2982 g d-Suprarenin in 1,53 ccm n-Salzsäure + 2,47 ccm Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4,4021 g. $d = 1,029$. $[\alpha] = +1,76^\circ$ im $1/2$ -dm-Rohr bei weißem Licht.²⁾

1. Versuche mit d-Alanyl-l-tyrosin:

a) 0,1168 g Dipeptid in 4,63 ccm Wasser gelöst = $1/10$ -n-Lösung.

1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm Wasser.

Nach 7 Minuten schwach rosa gefärbt. Nach 24 Stunden sehr intensive Rotfärbung.

b) 1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm $1/10$ -n-d-Alaninlösung.

Verhalten wie bei a). Kein Einfluß des d-Alaninzusatzes in der Art der Färbung bemerkbar.

2. Versuche mit l-Leucyl-l-tyrosin.

a) 0,0888 g in 3,02 ccm Wasser gelöst = $1/10$ -n-Lösung. 1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm Wasser.

Nach kurzer Zeit Rosafärbung. Sie ist nach 24 Stunden viel intensiver.

¹⁾ Das Suprarenin ist in Wasser so gut wie unlöslich. Wir konnten daher das Drehungsvermögen des Suprarenins in wässriger Lösung nicht feststellen und wählen deshalb einstweilen die Drehung des salzsauren Salzes als Grundlage für die Bezeichnung d und l.

²⁾ Herr Dr. Franz Flächer, Höchst, der die Spaltung des dl-Suprarenins durchgeführt hat, fand ganz ähnliche Werte.

b) 1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm $1/10$ -n-d-Alaninlösung.

In 5 Minuten schwache Rosafärbung. Nach 24 Stunden ist die Farbe grünlich.

3. Versuche mit Glycyl-l-tyrosin.

a) 0,0828 g Glycyl-l-tyrosin in 3,23 ccm Wasser = $1/10$ -n-Lösung.

1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm Wasser.

In 5 Minuten schwache Rosafärbung. Nach 24 Stunden intensivere Rotfärbung.

b) 1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinase-lösung, 1 ccm Wasser.

In 5 Minuten schwache Rosafärbung. Nach 24 Stunden ist die Farbe grünlich.

4. Versuche mit Suprarenin.

a) 0,0572 g l-Suprarenin in 2,94 ccm $1/10$ -n-Salzsäure gelöst = $1/10$ -n-Lösung.

1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinaselösung.

Sofort Rotfärbung. Sie wird bald dunkelrotbraun. Nach 24 Stunden trübt sich die Lösung. Es scheiden sich Flocken ab.

b) 0,0558 g d-Suprarenin in 2,94 ccm $1/10$ -n-Salzsäure gelöst = $1/10$ -n-Lösung.

1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinaselösung.

Gleiches Verhalten wie beim vorhergehenden Versuch.

c) 0,0470 g dl-Suprarenin in 2,42 ccm $1/10$ -n-Salzsäure gelöst = $1/10$ -n-Lösung.

1 ccm der Lösung = $1/10\,000$ -Mol., 1 ccm Tyrosinaselösung.

Gleiches Verhalten wie bei Versuch 4 a und b.

Bei allen diesen Versuchen haben wir Kontrollversuche ohne Zusatz von Tyrosinase angestellt. Nach 24 Stunden war nur eine schwache Rosafärbung zu bemerken.

Es sei noch erwähnt, daß der eine von uns in Gemeinschaft mit F. Müller mit Studien über das physiologische Verhalten des l-, d- und des dl-Suprarenins beschäftigt ist.