

# Zur Charakteristik des 3,5-Dibromtyrosins.

Von

Carl Th. Mörner, Upsala.

(Der Redaktion zugegangen am 20. September 1913.)

Seitdem Gorup-Besanez<sup>1)</sup> vor 50 Jahren zuerst die Darstellung bezw. — in gewissen Hinsichten — die Eigenschaften des Dibromtyrosins beschrieb, ist diese Verbindung nicht Gegenstand weiteren Studiums gewesen, wenn man davon absieht, daß Falta<sup>2)</sup> den Einfluß desselben (nach Einnahme per os) bei bestehender Alkaptonurie untersucht hat, und daß Wheeler und Mendel<sup>3)</sup> in einem Aufsätze über Jodgorgosäure (Dijodtyrosin) beiläufig erwähnen, daß Dibromtyrosin und Dijodtyrosin, so weit sie geprüft worden sind, von denselben Reagentien gefällt werden (demnach beide Fällung mit Phosphorwolframsäure geben), sowie daß AgBr ausfällt, wenn Dibromtyrosin mit AgNO<sub>3</sub>-haltiger Salpetersäure erhitzt wird. Da indessen das Dibromtyrosin nunmehr — nachdem es als hydrolytisches Spaltungsprodukt eines nativen Proteinstoffes (Gorgonin) dargestellt worden ist<sup>4)</sup> — eine gesicherte Stellung innerhalb der physiologischen Chemie erhalten hat, erlaube ich mir hier einige Mitteilungen über die fragliche Verbindung zu liefern, teils ganz neue, teils dazu bestimmt, gewisse Angaben Gorup-Besanez' zu ergänzen oder zu berichtigen.

## 1. Konstitution.

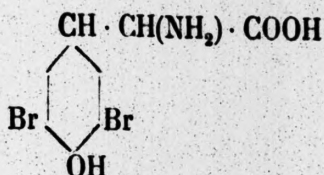
Daß im Dibromtyrosin die beiden Br-Atome sich in Orthostellung zur Hydroxylgruppe befinden, weshalb die Verbindung als 3,5-Dibromtyrosin:

<sup>1)</sup> Annal. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 125 (N. R. 49), 1863, S. 281—291: «Über die Einwirkung des Broms auf Tyrosin».

<sup>2)</sup> Dtsch. Arch. f. klin. Medizin, Bd. 81 (1904), S. 254.

<sup>3)</sup> The Journ. of biolog. Chemistry, Bd. 7 (1909), S. 1—9.

<sup>4)</sup> Siehe den nächstfolgenden Aufsatz.



zu charakterisieren ist, ist klar, wenn wir den Umstand, daß die Substanz bei der Millonschen Reaktion negatives Resultat ergibt (siehe unten), teils mit seit Gorup-Besanez' Zeit festgestellten, allgemein gültigen Gesetzen für Halogensubstitution in Phenolen (Blum und Vaubel<sup>1)</sup> u. a.), teils mit dem Resultat der von Wheeler und Johns<sup>2)</sup> ausgeführten Konstitutionsbestimmung für Jodgorgosäure (Dijodtyrosin) zusammen halten.

## 2. Darstellung.

Das von Gorup-Besanez angegebene Verfahren, gegründet auf die Einwirkung von Br-Dämpfen auf das trockene, feinpulverisierte Material, führt sicher zum Ziele und gibt gute Ausbeute, vorausgesetzt allerdings, daß einige kleinere, nachstehend anzugebende Modifikationen zur Anwendung kommen. So ist z. B. die Behandlung — unmittelbare Erwärmung auf Wasserbad — des Bromierungsprodukts (bestehend aus Dibromtyrosinhydrobromid und Überschuß von Br und HBr), die Gorup-Besanez vorschlägt, weniger geeignet, indem sie unter Umständen eine bedeutende Destruktion verursachen kann, die ihrerseits eine Verminderung der Ausbeute zur Folge hat und es erschwert, die Substanz rein zu erhalten. Weit sicherer wird das Ziel, die Entfernung des Br-Überschusses, dadurch erreicht, daß man das zuerst erhaltene Reaktionsprodukt an der Luft bei Zimmerwärme 4—5 Tage lang stehen läßt, wobei die Farbe immer heller wird, und der Geruch verschwindet. Ferner ergibt die fortgesetzte Behandlung des Bromierungsprodukts (anhaltendes Kochen mit Wasser behufs Abspaltung des HBr), die Gorup-Besanez vorschreibt, nicht annähernd das beste erhaltbare Resultat, indem ein sehr großer Teil des Dibromtyrosins dabei nicht ausgefällt wird und demnach ver-

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 57 (1898), S. 365—396.

<sup>2)</sup> Americ. chemic. Journ., Bd. 43 (1910), S. 11—19.

loren geht. Nahezu quantitativ wird dagegen die Ausbeute bei folgendem Verfahren: das gelüftete Reaktionsprodukt wird in Wasser gelöst (25 ccm auf 1 g angewandtes Tyrosin) und filtriert; zu dem aufgekochten Filtrat wird eine warme Natriumacetatlösung (1 g krystallisiertes Salz und 25 ccm Wasser auf 1 g angewandtes Tyrosin) hinzugesetzt; die Mischung läßt man bei Zimmerwärme einen Tag lang stehen, worauf die ausgeschiedene Krystallmasse auf das Filter genommen, mit Wasser gewaschen, ausgepreßt und in Übereinstimmung mit Gorup-Besanez' Vorschrift aus kochendem Wasser, zweckmäßigerweise unter Zusatz einer spärlichen<sup>1)</sup> Menge Tierkohle, umkrystallisiert wird.

Mit welcher der optisch isomeren Formen des Tyrosins Gorup-Besanez gearbeitet hat, findet sich nicht direkt gesagt. Aus den angeführten Zahlen für Krystallwassergehalt und Wasserlöslichkeit geht indessen ziemlich deutlich hervor, daß er sich der l-Form bedient hat, und daß seine Darstellung sich mit hin zunächst auf Dibrom-l-Tyrosin bezieht. Von mir sind sowohl die l- als die d,l-Form des Dibromtyrosins dargestellt worden durch Ausgehen von entsprechenden Formen des Tyrosins, beide in gut gereinigtem Zustande. Das l-Tyrosin ist durch Trypsindigestion von Fibrin, das d,l-Tyrosin durch Behandlung von reinem l-Tyrosin oder von anderem Tyrosinmaterial (gewonnen durch Kochen von Hornspänen mit Baryumhydroxyd in offenem Gefäß während 12 Stunden<sup>2)</sup>) mit Baryumhydroxyd (3 g nebst 10 g Wasser auf 1 g Tyrosin) in geschlossenem Gefäß bei + 170° C. während 5 Stunden.

### 3. Brom- und Stickstoffbestimmung.

Obwohl unter anderem der negative Ausfall bei Prüfung mit Millons Reagens zeigte, daß die dargestellten Präparate tyrosinfrei waren, und daß demnach die Bromierung als vollständig angenommen werden konnte, wurde doch der Bromgehalt durch Analyse nach Piria und Schiff und außerdem

<sup>1)</sup> Tierkohle adsorbiert das Dibromtyrosin energisch.

<sup>2)</sup> Hierdurch erhaltenes Tyrosin erwies sich als nicht vollständig racemisiert;  $[\alpha]_D^{20}$  betrug noch  $-1,75^\circ$  (5% ige Lösung, enthaltend 4% HCl).



der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl kontrolliert. Die Substanz getrocknet bei  $+ 120^{\circ}$ .

#### l-Präparat.

a) 0,4876 g	ergaben 0,5372 g AgBr,	entsprechend 46,88% Br.
b) 0,2077 »	» 0,2255 » »	» 46,22% »
c) 0,2362 »	verbrauchten 6,95 ccm $n_{10}$ -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ,	» 4,12% N.

#### d,l-Präparat.

a) 0,2263 g	ergaben 0,2461 g AgBr,	entsprechend 46,28% Br.
b) 0,2894 »	» 0,3172 » »	» 46,64% »
c) 0,2539 »	verbrauchten 7,3 ccm $n_{10}$ -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ,	» 4,03% N.
	(Berechnet für C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub> Br <sub>2</sub> :	47,17% Br.
	» » »	4,13% N <sup>1)</sup> ).

Bezüglich der Br-Werte muß Rücksicht auf den Umstand genommen werden, daß bei Analyse von Tyrosin- und anderen zyklischen Halogenderivaten die erhaltenen Halogenwerte im allgemeinen etwas niedriger als die berechneten auszufallen scheinen; so z. B. zeigen Gorup-Besanez' Br-Werte (für Dibromtyrosin) ein Defizit von 0,3, 0,5 bzw. 0,6, Friedländers<sup>2)</sup> Br-Werte (für Dibromindigo) 0,7 bzw. 0,3 und Henzes J-Werte (für Dijodtyrosin) 1,3<sup>3)</sup> bzw. 0,2%<sup>4)</sup>.

#### 4. Krystallform und Gehalt an Krystallwasser.

In diesen beiden Hinsichten herrscht beträchtliche Verschiedenheit zwischen der l- und der d,l-Form.

Das Dibrom-l-Tyrosin kann, je nach den vorliegenden Umständen, in zwei verschiedenen Formen auftreten.

a) Lange, feine *Nadeln* (ähnlich denen der Salicylsäure oder des reinen Tyrosins), gruppiert in voluminösen Bündeln oder Ballen. Krystallwasser fehlt. Wird regelmäßig erhalten, wenn man eine siedend zubereitete gesättigte, reine wässrige Lösung in Ruhe auf Zimmertemperatur abkühlen läßt.

b) Dünne *Tafeln* (ähnlich denen der Benzoesäure), ein voluminöses Magma bildend. Krystallwassergehalt entsprechend 2 Molekülen (berechneter Prozentgehalt: 9,61). Diese Form ist

<sup>1)</sup> Für C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (Tyrosin) berechnet sich: 7,74% N.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 42 (1909), S. 765—770.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 38 (1903), S. 60—79.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 51 (1907), S. 64—70.



erhalten worden, teils wenn man eine warme, gesättigte, reine wässerige Lösung unter kontinuierlichem Schütteln auf Zimmertemperatur abkühlen ließ, teils unter (sub a) oben angegebenen Verhältnissen, nur mit dem Unterschiede, daß die Lösung salzhaltig ist, wie sie bei Zusatz von Natriumacetat zu einer sauren Lösung von Dibrom-l-Tyrosin entsteht.<sup>1)</sup> Unbeschränkt kann, unter Beachtung der besonderen, verschiedenen Bedingungen, die a-Form absichtlich in die b-Form und vice versa übergeführt werden.

Die beiden l-Formen zeigen, wie gesagt, ein relativ voluminöses Krystallisationsbild und besitzen, nach Auspressen, schönen Seiden- bzw. Perlmutterglanz.

Dibrom-d,l-Tyrosin. Ist stets, unabhängig von dem Salzgehalt der Lösung oder dergleichen, von ein und demselben, den l-Formen gegenüber wohlabgegrenzten Typus erhalten worden: glasklare, kurze, vierkantige Prismen oder dicke Tafeln, mehr vereinzelt an den Wänden sitzend oder eine kompakte, schwere Schicht auf dem Boden des Gefäßes bildend. Nach Auspressen kein Seiden- oder Perlmutterglanz.

Verwittern sichtlich während der Aufbewahrung im Exsikkator. Krystallwassergehalt entsprechend 1 Mol. (berechneter Prozentgehalt: 5,05).

Vor der Bestimmung des Krystallwassergehalts ist, in jedem Falle, die stark ausgepreßte Substanz 1 Stunde lang im  $H_2SO_4$ -Exsikkator behufs sicherer Entfernung mechanisch anhaftender Feuchtigkeit aufbewahrt worden, wobei jedoch, den erhaltenen Werten nach zu urteilen, auch in geringerem Maße Krystallwasser abgegeben worden ist. Die Substanz ist danach bei  $+ 120^\circ C.$  bis auf konstantes Gewicht getrocknet worden.

#### Krystallwasserbestimmungen.

l-Präparat.	%	d,l-Präparat.	%
a-Form. Präparat 1	0	Präparat 8	4,33
› 2	0	› 9	4,90
› 3	0	› 10	4,59
b-Form. › 4	9,21	› 11	4,51
› 5	8,56		
› 6	7,92		
› 7	9,03		

<sup>1)</sup> Siehe «Darstellung», S. 126.

Die Verhältnisse liegen also in den diesbezüglichen Hinsichten bedeutend komplizierter, als wie es aus Gorup-Besanez' Untersuchung hervorgeht und im Anschluß an dieselbe in der Literatur dargestellt worden ist.<sup>1)</sup>

### 5. Löslichkeit in Wasser.

Löslichkeitsbestimmungen sind unter Anwendung nunmehr allgemein angewandter Vorsichtsmaßregeln (in Wärme bereitete, gesättigte Lösung, Behandlung in Schüttelmaschine 10 Stunden lang, genaues Achtgeben auf Temperatur usw.) ausgeführt worden. Versuchstemperatur:  $+ 20^{\circ}$  C. Die so erhaltene Lösung ist dann in Platinschale abgedampft worden; Trocknen bis zu Gewichtskonstanz bei  $+ 120^{\circ}$  C.

l-Präparat.	a) 1 : 338	Im Mittel:
	b) 1 : 353	1 : 345
d,l-Präparat.	1 : 595	
	1 : 588	1 : 591

Gorup-Besanez gibt den Löslichkeitsgrad für Dibromtyrosin zu 1 : 218 (bei  $+ 16^{\circ}$  C.) an. Auch wenn dieser Löslichkeitsgrad, wie aus seiner Krystallwasserbestimmung hervorgeht, als auf die l-Form bezüglich anzusehen ist, ist er doch allzu hoch, was darauf hindeutet, daß der genannte Autor mit übergesättigter Lösung gearbeitet hat.

### 6. Optische Drehung.

Das Verhalten des Dibrom-l-Tyrosins in dieser Hinsicht ist zuvor nicht untersucht worden. Bei Anwendung einer 5 g Substanz und 4 g HCl in 100 ccm enthaltenden Lösung ist im 2 dm-Rohr, bei  $+ 20^{\circ}$  C., eine Drehung von  $+ 0,13^{\circ}$  beobachtet worden. Also  $[\alpha]_D^{20} = + 1,30^{\circ}$ .

### 7. Schmelzpunkt.

Dibromtyrosin schmilzt in Kapillarröhre unter Zersetzung, die sich durch hochgradige Effervescenz<sup>2)</sup> und braun-schwarze

<sup>1)</sup> Z. B. in Abderhaldens Biochem. Handlexikon wird die Formel für Dibromtyrosin kategorisch angegeben als  $C_9H_9O_3NBr_2 + 2H_2O$ .

<sup>2)</sup> Eine 2 mm-Schicht der Substanz bläht sich auf bis zu  $2\frac{1}{2}$ —3 cm Höhe.

Färbung zu erkennen gibt, bei ungefähr  $+ 245^{\circ}$  C. Doch ist die beobachtete Temperatur in beträchtlichem Grade abhängig von der Erhitzungsgeschwindigkeit (bei, jedoch nicht extremen, Abweichungen hierin kann man Temperaturen von einerseits kaum 240, anderseits bis hinauf zu  $250^{\circ}$  erhalten). Ein augenfälliger Unterschied, bei gleichzeitiger Erhitzung, ist zwischen der l- und der d,l-Form oder der Mischung von beiden nicht beobachtet worden.

### 8. Säurecharakter.

Daß die Einführung der zwei negativen Br-Atome in das Tyrosinmolekül in augenfälligem Grade die Acidität (verglichen mit der, welche dem Tyrosin selbst zukommt) erhöht, gibt sich auf mehrfache Weise zu erkennen.<sup>1)</sup>

a) Die wässrige Lösung reagiert, wie bereits Gorup-Besanez bemerkt, sauer gegen Lackmus (der Geschmack ist etwas säuerlich-bitter).

b) Dibromtyrosin läßt sich mit Alkali und Phenolphthalein als Indikator approximativ titrieren. Die abgewogene Substanzmenge wurde unter leichtem Erwärmen in 10,0 ccm  $n_{/10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aufgelöst; Rücktitrierung mit  $n_{/10}$ -NaOH bis zu deutlicher Rosafärbung:

0,2362 g	verbrauchten	7,1 ccm	$n_{/10}$ -NaOH <sup>2)</sup>
	(berechnet	7,0	» » );
0,2539 g	verbrauchten	7,7	» »
	(berechnet	7,5	» » ).

Offenbar ist im Dibromtyrosin der basische Einfluß der NH<sub>2</sub>-Gruppe nahezu paralysiert durch den Einfluß der zwei Br-Atome, sodaß eine Möglichkeit zu acidimetrischer Titrierung eintritt, ebenso wie nach Methylenierung mit Formaldehyd (bei der Sörensenschen Formoltitrierung). Nur ist ein unbedeutender Überschuß von Alkali, über die berechnete Menge — 0,1 à 0,2 ccm  $n_{/10}$  bei Arbeit mit 2—3 dg Substanz — zur Er-

<sup>1)</sup> Sämtliche hierhergehörigen Prüfungen wurden mit d,l-Präparaten von Dibromtyrosin bzw. Tyrosin ausgeführt.

<sup>2)</sup> 1 ccm  $n_{/10}$ -NaOH der Berechnung nach entsprechend 0,0339 g Dibromtyrosin.



haltung einer deutlichen Endreaktion erforderlich. Ganz anders verhält sich bekanntlich Tyrosin. Bei Anwendung von 0,2413 g wurden von der Substanz nur 1,6 ccm (statt berechneter 13,3 ccm)  $n_{10}$ -NaOH verbraucht.

c) Aus mit Normal-Ammoniak bereiteter Lösung wird Dibromtyrosin (im Gegensatz zu Tyrosin) bei Einleiten von Kohlendioxyd bis zur Sättigung nicht ausgefällt. Die beiden Substanzen wurden in äquimolekularen Mengen angewandt.

#### Versuch 1.

α) 0,250 g Tyrosin + 25 ccm Normal-NH<sub>3</sub>. Bei CO<sub>2</sub>-Einleitung fielen bald Krystallnadeln aus, und das Ganze bildete schließlich ein Krystallmagma.

β) 0,475 g Dibromtyrosin + 25 ccm Normal-NH<sub>3</sub>. In dieser Lösung trat keine Ausscheidung ein, weder während der CO<sub>2</sub>-Einleitung noch selbst binnen eines Tages bei Aufbewahrung an kalter Stelle (dagegen fielen bald Dibromtyrosin-krystalle bei Zusatz von Essigsäure bis zu deutlich saurer Reaktion aus).

#### Versuch 2.

0,250 g Tyrosin + 0,475 g Dibromtyrosin + 50<sup>1)</sup> ccm Normal-NH<sub>3</sub>.

Bald fielen, während der CO<sub>2</sub>-Einleitung, reichlich Tyrosin-krystalle aus, die schließlich einen Brei bildeten. Nach Aufbewahrung während eines Tages an kalter Stelle wurde filtriert. Die Fällung stellte, nach kurzdauerndem Waschen mit Wasser, reines, halogenfreies Tyrosin dar; aus dem mit Essigsäure angesäuerten Filtrat setzten sich bald Dibromtyrosin-krystalle ab.

Angesichts der eben angeführten Tatsachen kann ich nicht — im Gegensatz zu dem, was Henze<sup>2)</sup> betreffs des Tyrosins bzw. Dijodtyrosins tut — dem Umstande, das Dibromtyrosin (hinreichende Konzentration der Lösung vorausgesetzt) von Phosphorwolframsäure gefällt wird, die Bedeutung eines

<sup>1)</sup> Obwohl 0,250 g Tyrosin an und für sich vollständig in 25 ccm Normal-NH<sub>3</sub> sich lösen, bleibt ein bedeutender Teil desselben ungelöst, wenn, von Anfang an, die äquivalente Menge (0,475 g) Dibromtyrosin zugegeben wird. Dagegen löst sich die fragliche Mischung der beiden Substanzen vollständig und rasch in 50 ccm Normal-NH<sub>3</sub>.

<sup>2)</sup> A. a. O. (1907), S. 66.

Beweises dafür beimessen, «daß Einführung weiterer negativer Radikale in das Molekül», wider Vermuten, «die *basischen*<sup>1)</sup> Eigenschaften desselben erhöhen würde». Ebenso wenig berechtigt, wie ein solcher Schluß offenbar betreffs des Dibromtyrosins wäre, ist er meines Erachtens auch, *ex analogia*, betreffs des Dijodtyrosins unrichtig<sup>2)</sup>. Die Deutung der Ursache für die Fällbarkeit der beiden fraglichen Substanzen durch Phosphorwolframsäure (zum Unterschied von Tyrosin) ist, wie mir scheint, anderswo zu suchen.

Die hier angeführte Verschiedenheit der Acidität ermöglicht es — durch Anwendung moderierten  $\text{NH}_3$ -Zusatzes oder von  $\text{CO}_2$ -Einleitung in eine mit Überschuß von  $\text{NH}_3$  bereitete Lösung — der Hauptsache nach Dibromtyrosin von Tyrosin, wenn sie in Mischung vorliegen, zu separieren.

#### 9. Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure (in Wärme).

Nach Gorup-Besanez soll Dibromtyrosin positiven Ausfall der Piriaschen Tyrosinreaktion zeigen.<sup>3)</sup> Trotz einer großen Anzahl verschiedenartig variiertes Versuche (sowohl mit l- als mit d,l-Präparaten) kann ich die Richtigkeit der erwähnten Angabe nicht bestätigen. Erwärmung mit konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  während 5 Minuten, sei es in Wasserbad oder in Paraffinbad bei  $+130$ ,  $160$  bzw.  $200^\circ \text{C}$ ., führte, bei der weiteren regelrechten Behandlung der Reaktionsmischung, in keinem Falle ein positives Resultat herbei, während mit äquimolekularen Mengen Tyrosin und bei im übrigen völlig gleichartiger Arbeitsweise positives Resultat schon nach Erwärmung im Wasserbad und, noch schöner, bei  $130^\circ$  erhalten wurde.

In einer Mischung von Dibromtyrosin und konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , die 5 Minuten lang bei  $200^\circ$  gehalten wurde, konnte keine Sulfosäurebildung, auch keine Abspaltung von Br oder

<sup>1)</sup> Beim Zitieren kursiviert.

<sup>2)</sup> Daß auch Dijodtyrosin (in Übereinstimmung mit Dibromtyrosin, aber im Gegensatz zu Tyrosin) *sauer* auf Lackmus reagiert, wird von Wheeler und Jamieson (Americ. chem. Journ., Bd. 33 [1905], S. 369) erwähnt.

<sup>3)</sup> A. a. O., S. 286.

HBr konstatiert werden, wohl aber konnte dem Anschein nach unverändertes Dibromtyrosin daraus isoliert werden.

Bei noch stärkerer Erhitzung mit konzentrierter  $H_2SO_4$ , z. B. bei Kjeldahlisierung, setzen sich im Kolbenhalse farblose, bromhaltige Krystalle ab, die einen intensiven Geruch von Bromphenol verbreiten.

#### 10. Verhalten gegen konzentrierte Chlorwasserstoffsäure (in Wärme).

0,850 g Dibrom-l-Tyrosin (wasserfreies) + 200 ccm konzentrierte HCl (spez. Gew. 1,19) wurden (im Kolben) in Wasserbad insgesamt 24 Stunden lang gehalten. Weitere 200 ccm konzentrierte HCl wurden hinzugefügt und die Flüssigkeit (in offener Schale) auf Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der strahlig krystallinische Eindampfungsrückstand wurde mit etwas Wasser entnommen, 1 g krystallisiertes Natriumacetat wurde hinzugesetzt, wobei sofort Krystalle (dünne Blättchen) ausfielen. Nach einem Tage wurde die Krystallmasse auf gewogenem Filter gesammelt und mit Wasser gewaschen; Auspressung und Trocknung bei + 120° C.; Gewicht der Substanz: 0,757 g.<sup>1)</sup>

Bei Umkrystallisieren aus warmem Wasser wurde die Substanz in langen, feinen Nadeln erhalten. Nach einstündiger Aufbewahrung im Exsikkator und darauffolgendem Trocknen bei + 120° C. erwies sie sich als Krystallwassers ermangelnd. Sie schmolz gleichzeitig mit zur Kontrolle verwendetem, reinem l-Dibromtyrosin; ergab bei Analyse 46,70% Br und 4,16% N, verhielt sich negativ bei der Millonschen Prüfung und verhielt sich auch in allen anderen geprüften Hinsichten wie unverändertes l-Dibromtyrosin. Die betreffenden Mutterlaugen wurden auf Tyrosin mit negativem Resultat untersucht. Ein gleichartiges Resultat wurde bei derselben Behandlung von d,l-Präparaten erhalten. Offenbar besitzt Dibromtyrosin eine sehr gute Resistenz gegen die Einwirkung konzentrierter HCl in Wärme.

#### 11. Verhalten gegen Salpetersäure.

Gegenüber dieser Säure ist Dibromtyrosin wenig resistent. Darüber bemerkt schon Gorup-Besanez: «Mit konzentrierter

<sup>1)</sup> In der 25 ccm betragenden Mutterlauge sollte, der Berechnung nach, unausgefällt ca. 0,075 g von dem Dibromtyrosin bleiben.



Salpetersäure übergossen färbt sich dunkel orange, löst sich unter Gasentwicklung auf, es entweicht Brom, und nach einiger Zeit scheiden sich goldgelbe Blättchen ab, die Dinitrotyrosin sind.» Auch von verdünnter Salpetersäure, in Wärme angewandt, wird die Substanz leicht angegriffen: Xanthoproteinsäurereaktion tritt ein, und bei gleichzeitigem Zusatz von  $\text{AgNO}_3$  fällt  $\text{AgBr}$  aus.

### 12. Verhalten gegen Essigsäure.

Dibromtyrosin löst sich bei Erwärmung mit Essigsäure, verdünnter oder konzentrierter, ohne dabei zu zerfallen, und ohne ein bei Eindampfen beständiges Salz zu bilden. Der Eindampfungsrest besteht aus freiem Dibromtyrosin.

### 13. Verhalten gegen Ammoniak.

Obwohl Dibromtyrosin, wie oben gezeigt worden, als Säure stärker als Tyrosin ist, ist die Substanz doch keine hinreichend starke Säure, um mit  $\text{NH}_3$  bei Abdampfen ein beständiges Salz zu bilden. «Die ammoniakalischen Lösungen verlieren beim Abdampfen sämtliches Ammoniak, es bleibt reines Dibromtyrosin zurück», sagt Gorup-Besanez, und zwar mit Recht, sofern man nicht «reines» in allzu buchstäblichem Sinne faßt, denn regelmäßig nimmt eine ammoniakalische Dibromtyrosinlösung bei längerer Zeit dauernder Erhitzung und Konzentrierung mehr oder weniger braune Färbung an, und die sich absetzenden Krystalle sind gleichfalls mißfarbig (eine Abspaltung von Br oder Tyrosin ist jedoch nicht beobachtet worden).

### 14. Verhalten gegen Baryum- oder Natriumhydroxyd (in Wärme).

Kochen mit konzentrierter Baryumhydroxydlösung während mehrerer Stunden führt keine Br-Abspaltung bzw. Freimachung von Tyrosin und auch sonst keine augenfällige Zersetzung herbei (braungefärbte Produkte entstehen nicht). Das gleiche ist der Fall bei entsprechender Behandlung mit Natriumhydroxyd.

**15. Verhalten bei Farbenreaktionen.**

*Negativer* Ausfall bei:  
Adamkiewics-Hopkins,  
Denigès-Mörners,  
Millons,  
Paulys (Diazoreaktion),  
Pirias<sup>1)</sup> und  
Wursters (Nitritreaktion).

*Positiver* Ausfall bei:  
Aloy und Rabauts,  
Folins (Phenolreaktion),  
der Ninhydrinreaktion und  
der Xanthoproteinsäure-  
reaktion.<sup>2)</sup>

**16. Verhalten gegen einige Fällungsreagentien.<sup>3)</sup>**

Bei den Versuchen wurde 0,2%ige Lösung von Dibromtyrosin (1) sowie zum Vergleiche, eine approx. äquimolekulare (= 0,1%ige) Lösung von der entsprechenden optischen Form des Tyrosins (2) hinzugesetzt.<sup>4)</sup>

a) Merkurinitrat.

1. Weiße Fällung \*.
2. Keine Trübung.

Auf dieselbe Weise verhalten sich Merkurinitrat und Millons Reagens.

b) Merkurichlorid oder -cyanid.

1. Keine Trübung.
2. » » .

c) Silbernitrat.

1. Keine Trübung.
2. » » .

Bei darauffolgendem Zusatz von einem oder einigen Tropfen Normal-NH<sub>3</sub>):

1. Weiße, dickflockige Fällung (vollständig löslich in mehr NH<sub>3</sub>).
2. Keine Trübung.

<sup>1)</sup> Siehe oben S. 132.

<sup>2)</sup> Siehe oben S. 134.

<sup>3)</sup> Die hierhergehörigen Reaktionen, betreffs des Dibromtyrosins, die schon Gorup-Besanez angegeben hat, sind durch \* ausgezeichnet worden.

<sup>4)</sup> Die Lösungen, in Wärme bereitet, wurden auf Zimmertemperatur abgekühlt.

d) Bleiacetat, neutr.<sup>1)</sup>

1. Keine Trübung \*.

2. » » .

Wenn die Dibromtyrosinlösung erst gegenüber Lackmus neutralisiert wird, tritt Fällung bei Zusatz von neutr. Bleiacetatlösung ein.

## e) Bleiessig.

1. Weiße Fällung \*.

2. Keine Trübung.

## f) Kuprisulfat.

1. Keine Trübung \*.

2. » » .

Bei Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  in Überschuß oder von einigen Tropfen Normal- $\text{NH}_3$ :

1. Gelbgrüne Fällung (ähnlich Kupriarsenit).

2. Hellblaue » .

## g) Kupriacetat.

1. Gelbgrüne Fällung (mit Überschuß des Reagens, klare, grasgrüne Flüssigkeit ergebend).

2. Keine Trübung.

## h) Phosphorwolframsäure.

Je für sich wurden als Reagens reine wässrige Lösung und solche, mit 5 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt, verwendet (die beiden Lösungen 20 % PWS enthaltend).

1. Keine Trübung.

2. » » .

Dieses Reaktionsresultat scheint in Widerspruch zu Wheeler und Mendels Angabe betreffs der Fällbarkeit des Dibromtyrosins (siehe oben S. 124) zu stehen. Besondere Versuche zeigen indessen, daß Fällung mit relativ stärkeren Lösungen erhalten wird. Während die hier oben angewandten Lösungen, gleichwie auch eine bei Zimmertemperatur vollständig gesättigte Lösung der l-Form (d. h. eine ca. 0,3 %ige), nicht von PWS gefällt wird, werden z. B. 1 %ige oder noch stärkere Lösungen (bereitet mit  $\frac{n}{2}\text{-H}_2\text{SO}_4$ ) gefällt. Das Aussehen der Fällung

<sup>1)</sup> Zu beachten ist, daß Lösung von Bleizucker, in Wärme bereitet, deutlich alkalisch reagieren kann, und daß beim Arbeiten mit solcher Reagenzlösung Fällung eintreten kann.



stimmt nahezu mit dem überein, das von Henze<sup>1)</sup> betreffs des Dijodtyrosins beschrieben wird.

i) Chlorwasser.

Zusatz von  $\frac{1}{2}$  Vol.

1. Binnen einiger Sekunden rasch zunehmende, milchige Trübung, später Fällung (klar löslich bei Schütteln mit Äther).

2. Keine Trübung.<sup>2)</sup>

k) Versuch über Fällbarkeit durch Alkohol aus von Baryumhydroxyd alkalischer Lösung. Die betreffenden Substanzen wurden in Überschuß von gesättigter Baryumhydroxydlösung aufgelöst, worauf 5 Vol. 95%iger Alkohol hinzugefügt und die Mischung geschüttelt wurde.

Dibromtyrosin } sofort Fällung.  
Tyrosin }

Auf gleiche Weise verhielten sich Asparaginsäure und Glutaminsäure. Keine Fällung wurde dagegen mit Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin oder Arginin erhalten.

### 17. Debromierung.

Zur Debromierung hat Gorup-Besanez Natriumamalgam verwendet. Als ein in diesem Falle noch geeigneteres Debromierungsmittel hat sich, nach orientierenden Versuchen mit verschiedenen Metallen (Al, Fe und Mg, allein oder in Kombination), Zinkstaub erwiesen. Die warme wässrige Lösung des Dibromtyrosins wird mit solchem versetzt und (unter Rückflußkühler) ca. 6 Stunden lang in Kochen gehalten. Danach wird etwas MgO (zur Ausfällung in Lösung gegangenen Zinks) hinzugefügt und sofort filtriert. Die Debromierung verläuft quantitativ, und man erhält das Reaktionsprodukt, das Tyrosin, in einer sehr salzarmen<sup>3)</sup> Lösung, aus der es bequem isoliert werden kann.

<sup>1)</sup> A. a. O. (1907), S. 69.

<sup>2)</sup> Bei beträchtlich reicherm Chlorwasserzusatz trübt sich auch die Tyrosinlösung.

<sup>3)</sup> Kein anderes Salz vorhanden als die der angewandten Dibromtyrosinmenge entsprechende Menge MgBr<sub>2</sub>.