

# Über die Bildung von l-p-Oxyphenylmilchsäure aus p-Oxyphenylbrenztraubensäure im tierischen Organismus.

Von

**Yashirō Kotake und Zenji Matsuoka.**

(Aus der medizinisch-chemischen Abteilung der Med. Akademie zu Osaka.)  
(Der Redaktion zugegangen am 16. Februar 1914.)

In früheren Untersuchungen hat Kotake<sup>1)</sup> festgestellt, daß im Harn eines mit Phosphor intensiv vergifteten Hundes p-Oxyphenylmilchsäure und zwar die l-Form derselben auftritt.

Wie Kotake ferner gemeinschaftlich mit Ellinger und bald darauf Fromherz gezeigt haben, kann die sogenannte Oxymandelsäure, welche von Schultzen und Riess<sup>2)</sup> aus dem Harn von akuter gelber Leberatrophie isoliert wurde, keine solche sein. Die von letzteren Autoren angegebenen Eigenschaften derselben sind denjenigen der p-Oxyphenylmilchsäure sehr ähnlich; neuerdings erwies O. Neubauer<sup>3)</sup> das Präparat aus dem Nachlasse Schultzens als linksdrehend. Es ist also fast zweifellos, daß die Säure von Schultzen und Riess nichts anderes als die l-p-Oxyphenylmilchsäure ist, wie auch O. Neubauer annimmt.

Es unterliegt kaum einem Zweifel, daß die Aminosäuren im tierischen Organismus über die Ketonsäure abgebaut werden (O. Neubauer<sup>4)</sup>); dementsprechend wird p-Oxyphenylbrenztraubensäure im Tierkörper zum größten Teil leicht zersetzt, während p-Oxyphenylmilchsäure denselben unverändert passiert (Kotake,<sup>5)</sup> Suwa<sup>6)</sup>). Wenn man diese Tatsachen und den

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 397 (1910).

<sup>2)</sup> Ann. d. Charitékrankenhauses, Bd. 15, 1, S. 74 (1869).

<sup>3)</sup> Biochem. Handlexikon, Bd. 4, S. 381.

<sup>4)</sup> Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 95, S. 211 (1908).

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 69, S. 409 (1910).

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 72, S. 113 (1911).

Umstand, daß die Ketonsäuren oft im Tierkörper zum kleinen Teil in die entsprechenden Alkoholsäuren umgewandelt werden, in Betracht zieht, so liegt die Vermutung nahe, daß die l-p-Oxyphenylmilchsäure, welche pathologisch im Harn auftritt, im Tierkörper aus Tyrosin über die p-Oxyphenylbrenztraubensäure gebildet wird.

Indessen hat Dr. Suwa<sup>1)</sup> gefunden, daß die p-Oxyphenylbrenztraubensäure im Menschenorganismus in die d-Form der p-Oxyphenylmilchsäure, nicht in die l-Form übergeführt wird. Auf Grund dieses Ergebnisses sprach O. Neubauer<sup>2)</sup> die Vermutung aus, «daß die l-p-Oxyphenylmilchsäure einer primären hydrolytischen  $\text{NH}_2$ -Abspaltung aus dem Tyrosin ihre Entstehung verdankt, die anscheinend deswegen eintritt, weil der normale oxydative Abbau über die Ketonsäure infolge der Lebererkrankung unmöglich ist».

Da aber Kotake<sup>3)</sup> an einem Kaninchen, welches wenigstens anscheinend ganz gesund erschien, bei Einführung der p-Oxyphenylbrenztraubensäure die Bildung der l-p-Oxyphenylmilchsäure beobachtet zu haben glaubte, so interessierte es uns, hier nochmals das Verhalten der genannten Ketonsäure im Tierkörper zu untersuchen.

Die angewandte Oxyphenylbrenztraubensäure wurde nach der Azlactonmethode dargestellt und durch mehrmalige Umkrystallisation aus Wasser gereinigt.

Als Versuchstier bedienten wir uns des Kaninchens und des Hundes, der Harn wurde wie folgt verarbeitet.

Der Harn wurde 24 Stunden vor Verabreichung der Säure, 24 Stunden nach Verabreichung und schließlich nochmals 24 Stunden später gesammelt. Jede Portion wurde auf dem Wasserbade fast zur Trockne eingedampft und mit heißem Alkohol vollständig extrahiert, bis das Extrakt nicht mehr die Millonsche Reaktion gab. Das vereinigte Extrakt, das vorsichtig eingedampft war, wurde mit Wasser aufgenommen und ausgeäthert.

---

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> l. c.

<sup>3)</sup> l. c.

Um den Ätherrückstand, der aus dem 24stündigen Harn nach Einführung der Säure gewonnen war, von der unverändert ausgeschiedenen Ketonsäure zu befreien, wurde er wieder in gesättigter Natriumbisulfidlösung gelöst und mit dem vorher mit schwefliger Säure gesättigten Äther ausgeschüttelt. Die abgetrennte Ätherschicht wurde einmal mit wenig Wasser gewaschen. Der Äther ließ beim Verdunsten eine gefärbte Krystallmasse zurück. Sie wurde nochmals mit Wasser aufgenommen und mit Bleiessig ausgefällt.

Der dabei auftretende Niederschlag wurde filtriert, mit Wasser mehrmals ausgewaschen, dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die vom Bleisulfid abfiltrierte Flüssigkeit eingedampft.

### I. Versuche am Kaninchen.

#### Versuch 1.

Einem Kaninchen (Körpergewicht: 2050 g) wurden 3 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz per os gegeben. Die gewonnenen Resultate finden sich in folgender Tabelle:

Tabelle 1.

| Zeit                          | Menge des Harns in ccm | Reaktion          | Ätherrückstand |                               | Gewonnene Säure aus Bleiessigniederschlag in g |
|-------------------------------|------------------------|-------------------|----------------|-------------------------------|--|
|                               |                        |                   | Gewicht in g   | Acidität in ccm $n/10$ -Lauge |  |
| 24 Stunden vor der Injektion  | 138                    | schwach alkalisch | 0,0802         | 5,2                           | —  |
| 24 Stunden nach der Injektion | 150                    | desgl.            | 0,2979         | 17,5                          | 0,0142   |
| Weitere 24 Stunden            | 200                    | „                 | 0,0680         | 4,3                           | —  |

Der Rückstand, welcher aus dem Bleiessigniederschlag gewonnen war, wurde zweimal aus Wasser umkrystallisiert. Er krystallisierte in farblosen, langen Nadeln, gab intensive Millonsche Reaktion und schmolz bei 167—168° C.

## Versuch 2.

Demselben Kaninchen wurde 3 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz subcutan injiziert. Die Resultate sind folgendermaßen:

Tabelle 2.

| Zeit                             | Menge des Harns<br>ccm | Reaktion             | Ätherrückstand  |                                  | Gewonnene Säure<br>aus Bleiessig-<br>niederschlag<br>in g |
|----------------------------------|------------------------|----------------------|-----------------|----------------------------------|---|
|                                  |                        |                      | Gewicht<br>in g | Acidität<br>in ccm<br>n/10-Lauge |   |
| 24 Stunden<br>vor der Injektion  | 220                    | alkalisch            | 0,0775          | 5,0                              | —   |
| 24 Stunden<br>nach der Injektion | 234                    | schwach<br>alkalisch | 0,6890          | 42,5                             | 0,0084  |
| Weitere<br>24 Stunden            | 226                    | alkalisch            | 0,0897          | 5,9                              | —   |

Der aus dem Bleiessigniederschlag gewonnene Rückstand (nadelförmige Krystalle) wurde mehrmals aus Wasser umkrystallisiert. Er gab intensive Millonsche Reaktion und zeigte einen Schmelzpunkt von 167—168° C.

Es wäre also die Säure, welche in obigen zwei Versuchen aus den Bleiessigniederschlägen gewonnen war, als eine optisch aktive Form der Oxyphenylmilchsäure zu betrachten. Leider konnten wir wegen des Mangels an Material die optische Eigenschaft derselben nicht bestimmen, und es war unklar, ob hier d- oder l-p-Oxyphenylmilchsäure vorlag. Beide optisch aktiven Formen der p-Oxyphenylmilchsäure besitzen ganz oder fast ganz denselben Schmelzpunkt (F. Ehrlich,<sup>1)</sup> Kotake<sup>2)</sup>)

## II. Versuche am Hund.

## Versuch 1.

Ein Hund (Körpergewicht: 12250 g) hat 5 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz per os bekommen. Die Verarbeitung des Harns geschah, wie oben erwähnt. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

<sup>1)</sup> Chem. Ber., Bd. 40, S. 1047 (1907).

<sup>2)</sup> l. c.

Tabelle 3.

| Zeit                             | Menge<br>des<br>Harns<br>in ccm | Reaktion | Ätherrückstand  |   | Gewonnene<br>Säure<br>aus Bleiessig-<br>niederschlag<br>in g |
|----------------------------------|---------------------------------|----------|-----------------|---|--|
|                                  |                                 |          | Gewicht<br>in g | Acidität<br>in ccm<br><sup>n</sup> / <sub>10</sub> -Lauge |  |
| 24 Stunden<br>vor der Injektion  | 650                             | sauer    | 0,2104          | 22,0  | —  |
| 24 Stunden<br>nach der Injektion | 568                             | desgl.   | 1,2428          | 75,3  | 0,1802   |
| Weitere<br>24 Stunden            | 570                             | ,        | 0,1328          | 20,0  | —  |

Die Säure, welche aus dem Bleiessigniederschlag gewonnen und durch Umkrystallisation aus Wasser gereinigt war, schmolz bei 167—168° C. Sie gab intensive Millonsche Reaktion und eine wässrige Lösung derselben zeigte Linksdrehung.

## Versuch 2.

Demselben Hunde wurde 5 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz unter die Haut eingespritzt. Die Resultate finden sich in folgender Tabelle:

Tabelle 4.

| Zeit                             | Menge<br>des<br>Harns<br>in ccm | Reaktion | Ätherrückstand  |   | Gewonnene<br>Säure<br>aus Bleiessig-<br>niederschlag<br>in g |
|----------------------------------|---------------------------------|----------|-----------------|---|--|
|                                  |                                 |          | Gewicht<br>in g | Acidität<br>in ccm<br><sup>n</sup> / <sub>10</sub> -Lauge |  |
| 24 Stunden<br>vor der Injektion  | 250                             | sauer    | 0,2162          | 26,0  | —  |
| 24 Stunden<br>nach der Injektion | 255                             | ,        | 1,1375          | 85,0  | 0,2148   |
| Weitere<br>24 Stunden            | 440                             | ,        | 0,1972          | 26,8  | —  |

Die aus dem Bleiessigniederschlag gewonnene und gereinigte Säure zeigte wieder alle Eigenschaften der l-p-Oxyphenylmilchsäure.

Da beide Krystallrückstände, die in den obigen Versuchen aus den Bleiessigniederschlägen gewonnen waren, ganz dieselben Eigenschaften zeigten, wurden sie vereinigt und bei 105° C. getrocknet und zur Bestimmung der spezifischen Drehung und Analyse benutzt.

0,3200 g Substanz in 18 ccm Wasser gelöst drehten im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht  $0,63^\circ$  nach links

$$[\alpha]_D = -17,8^\circ.$$

0,2112 g Substanz lieferten 0,4580 g  $\text{CO}_2$  und 0,1012 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$ :                      Gefunden:

C = 59,34%                                      59,19%

H = 5,49%                                      5,32%.

### Versuch 3.

Einem zweiten Hunde (Körpergewicht: 18 600 g) wurden 6 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz in zwei Portionen subcutan injiziert. Die Resultate finden sich in folgender Tabelle:

Tabelle 5.

| Zeit                          | Menge des Harns in ccm | Reaktion | Äther-rückstand in g | Gewonnene Säure aus Bleiessig-niederschlag in g |
|-------------------------------|------------------------|----------|----------------------|---|
| 24 Stunden vor der Injektion  | 790                    | sauer    | 0,2890               | —   |
| 24 Stunden nach der Injektion | 812                    | „        | 1,0050               | 0,0520  |
| Weitere 24 Stunden            | 850                    | „        | 0,3162               | —   |

Die hier gewonnene Säure aus dem Bleiessigniederschlag krystallisierte in langen Nadeln und nach mehrmaliger Umkrystallisation schmolz sie bei  $167-168^\circ \text{C}$ .; sie zeigte Linksdrehung und gab Millonsche Reaktion.

### III. Versuche am Menschen.

Bei den Versuchen von Dr. Suwa<sup>1)</sup> wurde p-Oxyphenylbrenztraubensäure immer per os angewandt. Da aber in dieser Applikationsweise Einwirkung der Darmmikroorganismen nicht ganz ausgeschlossen ist — nach F. Ehrlich<sup>2)</sup> vermag *Oidium lactis* aus p-Oxyphenylbrenztraubensäure die d-Modifikation der Oxyphenylmilchsäure zu bilden —, war es wünschenswert, nochmals am Menschen Injektionsversuche anzustellen. So hat in

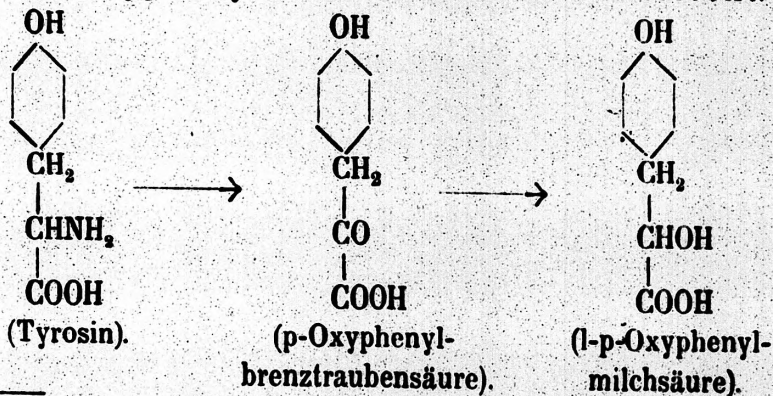
<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> l. c.

unserem Laboratorium Dr. Ikeguchi sich selbst 7 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure als Natriumsalz auf einmal unter die Haut injiziert, ohne eine Störung des Wohlbefindens zu bemerken.

Der Harn wurde, wie oben erwähnt, verarbeitet. Der Ätherrückstand, welcher aus dem 24stündigen Harn nach Injektion der Säure gewonnen war, zeigte keine nennenswerte Drehung. Er wurde in Wasser gelöst und mit Bleiessig gefällt. Aus dem Niederschlag hat Ikeguchi nur einen Sirup gewonnen, welcher Millonsche Reaktion gab und optisch inaktiv (oder Spur linksdrehend?) war.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die p-Oxyphenylbrenztraubensäure wenigstens im Hundorganismus zum geringen Teil in die l-p-Oxyphenylmilchsäure übergeführt wird.<sup>1)</sup> Da wir, wenn wir auch im menschlichen Körper diesen Vorgang nicht mit Sicherheit nachweisen konnten, annehmen dürfen, daß er auch im Menschenorganismus unter gewissen pathologischen Verhältnissen ähnlich wie im Fleischfresser oder möglicherweise in einem noch größeren Umfang stattfinden kann, können wir überhaupt die oben erwähnte Auffassung Neubauers über die Entstehung der krankhaft auftretenden l-p-Oxyphenylmilchsäure nicht als völlig begründet ansehen. Vielmehr scheint es uns wahrscheinlich, daß diese — wenigstens die im Harn des mit Phosphor vergifteten Hundes auftretende — aus dem Tyrosin über die p-Oxyphenylbrenztraubensäure entsteht.



<sup>1)</sup> Im hiesigen Laboratorium hat Dr. Sera einem Hunde synthetisch dargestellte m-Oxyphenylbrenztraubensäure eingegeben. Es ergab sich, daß auch ein geringer Teil derselben im Tierkörper in l-m-Oxyphenylmilchsäure umgewandelt und im Harn ausgeschieden wurde.